

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI  
ODJEL ZA PRIRODNE I ZDRAVSTVENE STUDIJE

Ilenia Sudulić  
POSTUPAK DEPURACIJE ŠKOLJKAŠA  
Završni rad

Pula, 2018.

SVEUČILIŠTE JURJA DOBRILE U PULI  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ ZNANOST O MORU

Ilenia Sudulić  
POSTUPAK DEPURACIJE ŠKOLJKAŠA  
Završni rad

JMBAG: 0303053699, redovna studentica

Studijski smjer: Preddiplomski studij znanost o moru

Predmet: Sigurnost i kvaliteta proizvoda iz mora

Znanstveno područje: prirodne znanosti

Znanstveno polje: interdisciplinarne prirodne znanosti

Znanstvena grana: znanost o moru

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović

Pula, 2018.

### **IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI ( završni rad )**

Ja, dolje potpisana Ilenia Sudulić, kandidat za prvostupnika (baccalaureus) znanosti o moru ovime izjavljujem da je ovaj Završni rad rezultat isključivo mogega vlastitog rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na objavljenu literaturu kao što to pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio Završnog rada nije napisan na nedozvoljen način, odnosno da je prepisan iz kojega necitiranog rada, te da ikoji dio rada krši bilo čija autorska prava. Izjavljujem, također, da nijedan dio rada nije iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugoj visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Studentica: Ilenia Sudulić

---

U Puli, \_\_\_\_\_, 2018. godine

**IZAJAVA**  
**o korištenju autorskog djela**  
**( završni rad )**

Ja, Ilenia Sudulić dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom Postupak procesa depuracije koristi na način da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli te kopira u javnu internetsku bazu završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice (stavljanje na raspolaganje javnosti), sve u skladu s Zakonom o autorskom pravu i drugim srodnim pravima i dobrom akademskom praksom, a radi promicanja otvorenoga, slobodnoga pristupa znanstvenim informacijama.

Za korištenje autorskog djela na gore navedeni način ne potražujem naknadu.

U Puli, \_\_\_\_\_ (datum)

Potpis

\_\_\_\_\_

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. ŠKOLJKAŠI I BOLESTI .....	3
2.1. Biološki agensi .....	4
2.1.1. Virusi .....	4
2.1.1.1. Norwalk-like virus (NLV) .....	5
2.1.1.2. Hepatitis A virus (HAV) .....	5
2.1.2. Bakterije .....	5
2.1.2.1. Bakterije vodenog ekosustava .....	7
2.1.2.1.1. <i>Clostridium botulinum</i> .....	7
2.1.2.1.2. <i>Vibrio</i> sp. ....	7
2.1.2.1.3. <i>Plesiomonas shigelloides</i> .....	9
2.1.2.1.4. <i>Aeromonas</i> sp. ....	9
2.1.2.2. Bakterije svih ekosustava .....	9
2.1.2.2.1. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	9
2.1.2.2.2. <i>Clostridium perfringens</i> .....	10
2.1.2.2.3. <i>Bacillus</i> sp. ....	10
2.1.2.3. Bakterije ljudskog i/ili životinjskog porijekla .....	10
2.1.2.3.1. <i>Salmonella</i> sp. ....	10
2.1.2.3.2. <i>Shigella</i> sp. ....	11
2.1.2.3.3. <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.1.2.3.4. <i>Campylobacter jejuni</i> .....	12
2.1.2.3.5. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
2.1.3. Biotoksini .....	12
2.1.4. Paraziti .....	13
2.2. Kemijski agensi .....	13
2.3. Fizikalni agensi .....	14
3. ZDRAVSTVENA ISPRAVNOST ŠKOLJKAŠA .....	15
4. PROCES DEPURACIJE .....	20
4.1. Povijest depuracije školjkaša .....	20
4.2. Zakonski uvjeti za depuracijske i otpremne centre za školjkaše .....	21
4.3. Osnove postupka depuracija .....	24
4.4. Kvaliteta vode u sustavu za depuraciju .....	24

4.4.1. Parametri kvalitete vode .....	25
4.4.1.1. Otopljeni kisik (DO) .....	25
4.4.1.2. Salinitet .....	26
4.4.1.3. Temperatura .....	26
4.4.1.4. Turbiditet .....	27
5. DEZINFEKCIJA VODE U SUSTAVIMA ZA DEPURACIJU.....	28
5.1. Ultraljubičasta (UV) dezinfekcija .....	28
5.2. Ozon .....	29
5.3. Klor .....	30
5.4. Jod .....	31
6. MEHANIZAM DEPURACIJE .....	32
6.1. Opći dizajn i rad recirkulacijskog sustava za depuraciju .....	32
6.2. Standardni dizajnirani sustavi (CEFAS) .....	34
6.2.1. Standardni horizontalno dizajnirani sustav (mali volumen) .....	35
6.2.2. Standardni dizajnirani višeslojni sustav .....	36
6.2.2.1. Vertikalni standardni dizajn sustav srednjeg kapaciteta .....	36
6.2.2.2. Veliki standardni dizajnirani sustav .....	38
6.2.3. Standardni dizajnirani „bulk bin“ sustav .....	39
6.2.4. Standardni „stacking“ sustav .....	40
6.3. Recirkulacijski vertikalni sustav.....	42
7. ZAKLJUČAK .....	44
8. LITERATURA .....	45

## 1. UVOD

Školjkaši prema sistematici pripadaju koljenu mekušaca (Mollusca), a razredu Bivalvia (Linnaeus, 1758.) (Matonickin i sut., 1998). Rosenerg (2014) je u svom radu opisao oko 44 tisuća vrsta morskih školjakaša. Periske (*Pinna nobilis*) i prstaci (*Lithophaga lithophaga*) su školjkaši čije je izlov u Jadranskom moru, prema Zakonu o zaštiti prirode (NN, 70/05), zabranjen. U Hrvatskoj su dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) i kamenica (*Ostrea edulis*) dvije najčešće uzgojne vrste školjakaša. U 2016. godini ukupna proizvodnja dagnja iznosila je 699 tona te 64 tona kamenica. Uzgojno područje s najvećom proizvodnjom u Hrvatkoj je Malostonski zaljev ([www.ribarstvo.mps.hr/default.aspx?id=14](http://www.ribarstvo.mps.hr/default.aspx?id=14)). U zapadnoj i istočnoj obali Istarske županije, najpoznatija uzgojna područja za školjkaše su: Limski zaljev, Raški zaljev, Uvala Budava, Medulinski zaljev te Novigradsko more (NN, 82/14).

Poznato je da su škrge respiratorni organ koji, ujedno, služi i za hranjenje. Školjkaši, s obzirom da se hrane filtracijom vode, unose u organizam hranjive čestice kao što su fito- i zooplankton, dentritus, bakterije i sl. Različitim provedenim istraživanjima dokazano je da školjkaši mogu filtrirati 8 litara morske vode u sat vremena (Mašić, 2004). Ukoliko se u okolnoj morskoj vodi nalaze kontaminanti kao što su različite štetne kemijske tvari i mikroorganizmi, školjkaši ih filtracijskom aktivnošću unose u svoj organizam, gdje se bioakumuliraju (Cajaraville i sur., 2000).

Kako bi se zaštitilo zdravlje potrošača, državna tijela nadležna za sigurnost hrane utvrđuju način kontrole uzgojnih područja i područja za ponovno polaganje školjakaša. Prema Planu praćenja kakvoće mora i školjakaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjakaša (NN, 82/14) provode se laboratorijska ispitivanja za utvrđivanje mikrobiološke kvalitete uzgojnog područja. Za određivanje kvalitativno - kvantitativnog sastava fitoplanktonske zajednice uzorkuje se morska voda uzgojnog područja te za određivanje biotoksina te prisutnost bakterija, virusa i/ili parazita uzorkuju se uzgojeni školjkaši. Područja u kojima se obavljaju uzgoj i izlov školjakaša, ovisno o razini fekalnog onečišćenja, razvrstavaju se u: A, B i C razrede (NN, 99/07). Sukladno propisima, školjkaši iz razreda A (razred najbolje mikrobiološke kakvoće, tj. niska razina fekalnog onečišćenja) nakon čišćenja i pakiranja u otpremnom centru, šalju se na tržište. Školjkaši iz razreda B prije pakiranja moraju obavezno biti podvrgnuti procesu depuracije (pročišćavanja ili purifikacije). Pročišćavanje je proces kojim se živi školjkaši sakupljeni za tržište stavljaju u pogone gdje se

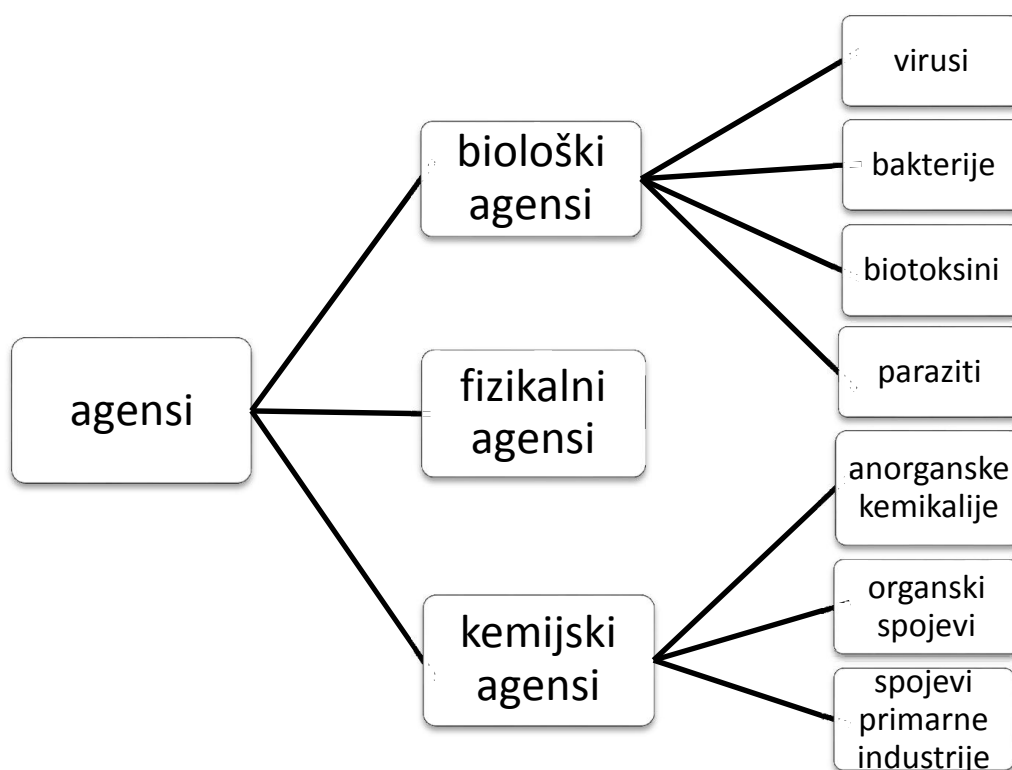
sadržaj njihovog probavnog sustava pročišćava čistom morskom vodom u kontroliranim uvjetima (Jackson i Ogburn, 1999).

Cilj ovog završnog rada je opisati koncept procesa depuracije, rad sustava za depurciju te opisati značaj ovog postupka za zdravlje potrošača.



## 2. ŠKOLJKAŠI I BOLESTI

Prije nekoliko stoljeća utvrđena je uska povezanost između školjkaša i pojave različitih bolesti neposredno nakon njihove konzumacije. S unaprijeđenjem mikrobioloških tehnika, dokazano je da postoje različiti mikroorganizmi uzročnici bolesti (Jackson i Ogburn, 1999). Kako se hrane filtracijom (NSW Food Authority, 2005), školjkaši iz okolne vode bioakumuliraju i patogene bakterije, viruse i štetne tvari (Oraić i sur., 2001). Koncentracija navedenih kontaminanta u njihovom tkivu može biti 100 puta veća od koncentracije u okolnoj morskoj vodi u kojoj se nalazi organizam (NSW Food Authority, 2005). Dokazano je da depuracija ima važnu i efikasnu ulogu u uklanjanju bakterija koje se nalaze u školjkašima (Jackson i Ogburn, 1999). Purifikacija je kontrolirani proces koji sprječava negativne posljedice za javno zdravlje ljudske populacije pri konzumaciji svake vrste školjkaša (Bark, 2007). Uloga depuracije u uklanjanju ostalih agenasa iz organizma nije dovoljno istraženo polje. Školjkaši se mogu kontaminirati putem fekalnog zagađenja, tijekom rukovanja ili skladištenja organizma (Jackson i Ogburn, 1999). Kontaminanti koji se unose filtracijom u organizam, ispuštaju se u obliku fekalija koji se zatim sedimentiraju na dnu tanka te ih je potrebno što prije izbaciti iz tanka. Potrebno je napomenuti da je tijekom procesa važno sprječavati suspenziju fekalija (Bark, 2007). Biološke, kemijske ili fizičke tvari koje izazivaju negativne posljedice za ljudsko zdravlje nazivaju se opasnosti, agensi ili hazardi (Slika 1) (CAC, 2001).



Slika 1. Prikaz podjele agenasa u: biološke, fizikalne i kemijske agense (prema: Huss i Gram, 2004).

## 2.1. Biološki agensi

Skupinu štetnih bioloških agenasa čine virusi, bakterije, biotoksini i paraziti (Huss i Gram, 2004).

### 2.1.1. Virusi

Virusi, organizmi veličine od 25 do 70 nm, sastoje se od proteinskog omotača i deoksiribonukleinske (DNA) ili ribonukleinske kiseline (RNA) u kojima se nalazi genom. Za razliku od ostalih mikroorganizama ne posjeduju stanične komponente a njihovo se umnažanje odvija unutar stanice domaćina (Huss i sur., 2004). Morski okoliš predstavlja odlično stanište te se upravo u jednoj litri morske vode nalazi do deset milijarda nepatogenih virusa (Lees, 2000). U vodeni ekosustav patogeni virusi dopijevaju putem kanalizacijskog otpada čime se zatim kontaminiraju organizmi koji obitavaju u blizini ispusta. Konzumacija školjkaša kontaminiranih kanalizacijskim otpadom ili konzumacijom školjkaša koji su kontaminirani tijekom pakiranja su dva najčešća načina unošenja patogenih virusa u ljudski organizam (Huss i sur., 2004). Virus koji su štetni za ljudsko zdravlje uzrokuju najčešće dvije različite skupine simptoma: virusni gastroenteritis i virusni hepatitis (Caul, 2000). Glavni prijenosnici

ovih mikroorganizma su školjkaši koji ih, filtracijom kontaminirane vode koncentriraju i zadržavaju u probavnom sustavu (Huss i sur., 2004). Cliver (1994.b) ukazuje da kontaminacija školjkaša virusnim agensima dolazi u trenutku kada su školjkaši izloženi kontaminiranoj morskoj vodi. Za ukljanjanje virusa iz školjkaša potrebni su posebni tretmani kao što su toplinska obrada ili pročišćavanje (Huss i sur., 2004). Iako je njihovo uklanjanje u procesu depuracije nedovoljno istraženo područje, veliki broj prisutnih virusa se uspješno uklanja, međutim mali dio mikroorganizma opstaje u školjkašima što može predstavljati veliki rizik za ljudsko zdravlje (Eyles, 1980). Najveća epidemija uzrokovana konzumacijom kontaminiranih školjkaša zabilježena je u Kini 1988. godine s 290 000 oboljenih osoba (Lees, 2000, Halliday i sur., 1991, Tang i sur., 1991).

#### **2.1.1.1. Norwalk-like virus (NLV)**

Norwalk-like virus je skupina virusa koji uključuje dobro poznat Norwalk virus, Snow mountain virus, Hawaii i Montgomery virus. Norwalk virus pripada obitelji Caliciviridae (Huss i sur., 2004). Prvi simptomi javljaju se 24 sata nakon konzumacije kontaminirane hrane, a uključuju: mučninu, povraćanje i proljev. Oboljenje traje od 1 do 4 dana. Smatra se da je infektivna doza vrlo niska, no nema sigurnih dokaza (Gerba i Haas, 1988). NLV je virus koji u ljudski organizam ulazi putem kontaminirane hrane, vode, okoline ali se može prenositi od osobe do osobe (EC, 2002).

#### **2.1.1.2. Hepatitis A virus (HAV)**

Hepatitis A pripada obitelji Picornaviridae. HAV u ljudski organizam ulazi putem kontaminirane vode ili hrane te uzrokuje infekciju jetre. Za inkubaciju je potrebno od 15 do 50 dana, a prvi simptomi su: žutica, povraćanje, anoreksija i slabost (Huss i sur., 2004). Za spriječiti oboljenje dovoljno je obaviti cijepljenje protiv Hepatitis-a A (Cliver, 1997).

#### **2.1.2. Bakterije**

Jednostanične bakterije su mikroorganizmi koje pronalazimo svugdje oko nas, pa tako i u organizmima kao što su školjkaši. Ovi mikroorganizmi mogu biti prirodan stanovnik morskog okoliša ili mogu biti unešeni putem fekalnog zagađenja. Postoje različite vrste bakterija koje se dijele u dvije značajne skupine: patogene i nepatogene bakterije. Potrebno je posvetiti posebnu pozornost patogenim mikroorganizmima jer ova skupina uzrokuje različite bolesti pri konzumaciji hrane koje je kontaminirana humanim patogenim bakterijama. Za izbijanje bolesti potrebna je minimalna infektivna doza (MID) odnosno minimalna količina

bakterijskih stanica (Huss i sur., 2004). MID varira ovisno o vrsti bakterije te je naprimjer kod *Vibrio* sp. potrebno od  $10^5$  do  $10^6$  bakterijskih stanica za izbijanje bolesti (Twedt, 1989). Za razliku od navedenog, za nastanak infekcije uzrokovane *Salmonella typhi* i *Shigella* sp. potrebna je manja MID (Kothary i Babu, 2001). Patogene bakterije koje se prenose hranom dijele se ovisno o posljedicama koje se javljaju nakon konzumacije kontaminirane hrane: bakterije koje uzrokuju intoksikaciju i bakterije koje uzrokuju bakterijske infekcije (Huss i sur., 2004).

Razmnožavanje patogenih bakterija koje uzrokuju intoksikaciju odvija se unutar hrane/organizma te umnažanjem nastaju toksini. Iz razloga što se toksini proizvode u školjkašima prije same konzumacije, prvi simptomi kao što su mučnina i povraćanje javljaju se neposredno nakon same ingestije. Potrebno je da se u hrani nalazi od  $10^5$  do  $10^8$  cfu/g toksina kako bi se izazvala intoksikacija pri konzumaciji kontaminirane hrane (Huss i sur., 2004).

Patogene bakterije koje uzrokuju infekcije prenose se hranom u ljudski organizam gdje zatim dolazi do njihovog umnažanja. Tipični simptomi koje se javljaju u slučaju bakterijske infekcije su vrućica i proljev (Huss i sur, 2004).

Depuracija se pokazala kao uspješan proces u uklanjanju bakterija iz probavnog sustava školjkaša. Ukoliko želimo osigurati ispravan mikrobiološki proizvod potrebno je poznavati vrstu mikroorganizma koja se nalazi u samom organizmu (Jackson i Ogburn, 1999). Razlog tome je što, ovisno o njihovom porijeklu, svaka je bakterija različita. Primjer usporedbe su *E. coli* i *V. parahaemolyticus* (Eyles i Davey, 1984). Fekalne bakterije, u procesu depuracije, karakterizira olakšano ispuštanje iz samog organizma u obliku fekalija. Bakterije koje su sastavni dio flore organizma i vodenog ekosustava kao *Vibrio* sp. će se teže ukloniti iz probavnog sustava ili tkiva organizma (Jackson i Ogburn, 1999).

Prema Huss (1997) patogene bakterije se razvrstavaju u tri skupine: bakterije vodenog ekosustava, bakterije svih ekosustava te bakterije ljudskog i/ili organizma kopnenih životinja (Tablica 1).

Tablica 1. Podjela patogenih bakterija prema okolišu koji predstavlja njihovu optimalnu sredinu: bakterije vodenog ekosustava, bakterije svih ekosustava (ubikvitarne) te bakterije iz ljudskog organizma i/ili organizma kopnenih životinja (prema: Huss, 1997).

	Vrsta bakterije
Patogene bakterije iz vodenog ekosustava	<i>Clostridium botulinum</i> , <i>Vibrio</i> sp., <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Aeromonas</i> sp.
Patogene bakterije svih ekosustava (ubikvirarne)	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus</i> sp.
Patogene bakterije iz ljudskog i/ili organizma kopnenih životinja	<i>Salmonella</i> sp., <i>Shigella</i> sp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>

#### 2.1.2.1. Bakterije vodenog ekosustava

U skupinu patogenih bakterija vodenog ekosustava nabrajaju se: *Clostridium botulinum*, *Vibrio* sp. (*V. cholerae*, *V. Parahaemolyticus*, *V. Vulnificus*), *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas* sp. (Huss, 1997).

##### 2.1.2.1.1. *Clostridium botulinum*

Gram pozitivna bakterija *Clostridium botulinum* proizvodi različite toksine koje se klasificiraju od slova A do slova G. Toksini tipa A, B, E i F su patogene za ljudski organizam jer izazivaju intoksikaciju koja dobiva naziv po samoj vrsti bakterije, odnosno botulizam. Simptomi botulizma su mučnina, povraćanje, slab vid, poteškoće u govoru, poteškoće u gutanju, mišićna slabost, poteškoće u disanju te je moguća i smrt. Prvi simptomi javljaju se od 12 do 36 sati neposredno nakon konzumacije zaražene hrane (Huss i sur., 2004).

Toksini koje proizvodi bakterija *C. botulinum* spadaju u skupinu najjačih bioloških toksina. Da bi nastupila smrt potrebno je da se u ljudski organizam unese od 30 do 100 ng toksina (Lund i Peck, 2000). Toksin je osjetljiv na visoke temperature i na lužnatu pH. Za inaktivaciju ovog snažnog toksina potrebno je prokuhati dagnje 20 minuta pri temperaturi od 79°C ili 5 minuta pri temperaturi od 85°C (Hauschild, 1989).

##### 2.1.2.1.2. *Vibrio* sp.

Prirodna staništa gram negativne bakterije roda *Vibrio* su mora i estuariji. Ako se u navedenim staništima nalaze školjkaši ova će se bakterija filtracijom naseliti u probavni sustav organizma. Rod *Vibrio* pripada obitelji Vibrionaceae (Huss i sur., 2004), a sastoji se od 34 vrste. Od njih 34, 13 je patogenih vrsta (Kaysner, 2000; FAO/WHO, 2001). Najpoznatije

patogene vrste su: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. Vulnificus*. Kako bi se omogućilo razmnožavanje ovog roda potrebno je da se u njihovom okruženju nalazi od 2 do 3 % NaCl (Kaysner, 2000; Oliver i Kaper, 1997). Na količinu prisutnih *Vibrio* sp. u vodenom okolišu utječu različiti faktori kao što su temperatura, slanost i gustoća algi (Huss i sur., 2004). Upravo je najveća abundancija *Vibrio* sp. pronađena u ljetnim mjesecima (O'Neill i sur., 1992).

*Vibrio cholerae* je vrsta bakterija koja pripada rodu *Vibrio* sp. i sačinjavaju više od 130 serotipova. Ono što je zajedničko serotipovima O1 i O139 jest da proizvode toksin kolere te obitavaju u morskim ekosustavima i estuarijima. *V. Cholerae* uzrokuje koleru. Kolera je gastrointestinalna bolest čiji su simptomi proljev i mučnina (Huss i sur., 2004). Za pojavu prvih simptoma, smatra se da se je potrebno  $10^6$  stanica bakterija (Kaysner, 2000). Glavni uzročnik širenja kolere je kontaminirana kanalizacijska voda te školjkaši koji filtriraju fekalijama kontaminiranu vodu i time unose u svoj probavni sustav ovu vrstu (Huss i sur., 2004). *V. cholerae* mogu se pronaći pričvršćeni za površinu planktona (Chiavelli i sur., 2001). Ova je bakterija osjetljiva na visokim temperaturama, na djelovanje kiseline te na hlađenje (Huss i sur., 2004).

*Vibrio parahaemolyticus* je vrsta koja također pripada rodu *Vibrio*. Pri konzumaciji termički neobrađenih ili nedovoljno termički obrađenih školjkaša, ova bakterija uzrokuje gastroenteritis. Simptomi traju od 48 do 72 sata a uključuju: proljev, mučninu, povraćanje, glavobolju i dr. Za inkubaciju ove vrste bakterija potrebno je od 8 do 72 sata (Kaysner, 2000). Primijećeno je da se broj prisutnih *V. parahaemolyticus* u školjkašima povećava s visokim temperaturama okolne morske vode (EC, 2001). Ukoliko morska voda ima salinitet koji se kreće od 20 do 25 psu, broj bakterija će biti znatno visok (FAO/WHO, 2001). Hlađenje školjkaša na 5°C, povećane razine NaCl te niska pH vrijednost okolne vode mogu spriječiti njihovo umnažanje. Depuracija u ovom slučaju nije efikasna, već čak može pridonijeti razmnožavanju *V. Parahaemolyticus* (FDA, 2000; Eyles i Davey, 1984) ukoliko se ne prati temperatura vode u sustavu (Murphree i Tamplin, 1995; Tamplin i Capers, 1992).

*Vibrio Vulnificus* je vrsta koja često uzrokuje infekcije ljudi nakon konzumacije kamenica s obzirom da se one tradicionalno konzumiraju sirove. Pri konzumaciji sirovih školjkaša, bakterija uzrokuje bakteremiju i septikemiju. Prvi simptomi javljaju se 38 sati nakon konzumacije, a uključuju groznicu i mučninu (Huss i sur., 2004). Prema EC, 2001. *V. Vulnificus* ima veći postotak uzrokovanja bolesti kod osoba koje boluju od kronične ciroze,

hepatitisa ili kod alkoholiziranih osoba. Za izazivanje bolesti kod ljudi potrebna je koncentracija od  $10^3$  *V. Vulnificus* po gramu (FDA, 2000). Mikroorganizam je osjetljiv na nisku pH vrijednost (Little i sur., 1997), a njihov broj se smanjuje sa povećanim salinitetom i toplinom. Kao i kod *V. Parahaemolyticus* depuracija nije efikasna, već naprotiv može pridonijeti umnožavanju *V. Vulnificus* (Huss i sur., 2004) ukoliko se ne prati temperatura vode u sustavu (Murphree i Tamplin, 1995; Tamplin i Capers, 1992).

#### **2.1.2.1.3. *Plesiomonas shigelloides***

*Plesiomonas shigelloides* je jedina vrsta roda *Plesiomonas* koja pripada obitelji Vibrionaceae. Mikroorganizam uzrokuje infekcije rana, septicemiju i gastroenteritis pri konzumaciji sirovitih kamenica (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.1.4. *Aeromonas* sp.**

Rod *Aeromonas* je pripadao obitelji Vibrionaceae, no od 1986. godine prirapa obitelji Aeromonadaceae. Vrste bakterija koje sačinjavaju ovaj rod su štetne za ljude, ali i za životinje (Huss i sur., 2004). Provedena istraživanja potvrđuju prisutnost *Aeromonas* sp. u 33 do 100% uzorka morske vode, što ukazuje da je ova bakterija redoviti stanovnik vodenog okoliša (Palumbo i sur., 2000). Uzimajući u obzir da su školjkaši organizmi koji filtriraju morsku vodu, može se zaključiti da se vrste roda *Aeromonas* koncentriraju u školjkašima koji filtriraju okolnu vodu. Konzumacijom kontaminiranih organizma dovodi do pojave prvih simptoma kao što su infekcije kože i infekcije mekog tkiva. Kombinacijom niskih temperatura, acidifikacije i/ili soljenjem vrši se smanjenje rasta i razmnožavanja ovog mikroorganizma (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.2. Bakterije svih ekosustava**

U skupinu bakterija koje se nalaze u svim ekosustavima nabrajaju se: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus* sp. (Huss, 1997).

##### **2.1.2.2.1. *Listeria monocytogenes***

Obitelj Listeriaceae sastoji se od sedam vrsta bakterija od kojih je jedina gram-pozitivna *Listeria monocytogenes* patogena za ljude (Farber i Peterkin, 2000). Ova bakterija izaziva rijetku bolest, listeriozu. Listerioza se najčešće javlja kod osoba sa slabim imunološkim sustavom kao što su: starije osobe, osobe koje boluju od HIV infekcije i trudnice gdje izaziva infekciju središnjeg živčanog sustava. Za inkubaciju bakterije potrebno je 91 dan. Ova

bakterija nije tipična za vodeni ekosustav (Huss i sur., 2004) no povezuje se sa konzumacijom sirovitih ili nedovoljno termički obrađenih školjakaša (Klontz and Rippey, 199.; Kvenberg, 1991).

#### **2.1.2.2.2. *Clostridium perfringens***

Gram pozitivni *Clostridium perfringens* je anaerobna bakterija koja pripada obitelji Clostridiaceae (Huss i sur., 2004). Pronalazi se u tlu, vodi, sedimentu te u fecesu (Adams i Moss, 2000). Pri konzumaciji zaražene hrane, u tankom crijevu dolazi do proizvodnje toksina. Toksin izaziva mučninu, proljev i povraćanje (Huss i sur., 2004). Ova bakterija se najčešće povezuje s konzumacijom morskih plodova kao što je to bio primjer s 200 oboljenih osoba u SAD-u (Feldhusen, 2000).

#### **2.1.2.2.3. *Bacillus* sp.**

*Bacillus* sp. je široki rod od kojeg je najpoznatija vrsta gram pozitivna bakterija *Bacillus cereus*. Pronalazi se u tlu, vodi i sedimentu (Huss i sur., 2004) a najčešće se unosi u ljudski organizam putem sirove hrane (Granum and Baird-Parker, 2000). Bakterija stvara toksine koje izazivaju dvije različite bolesti. Prva, javlja se od 8 do 16 sati nakon konzumacije zaražene hrane gdje su simptomi mučnina i proljev. Toksin se stvara u probavnom sustavu. Kod druge vrste bolesti toksin se stvara u hrani te se simptomi kao što su mučnina i proljev javljaju nekoliko sati nakon konzumacije (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.3. Bakterije ljudskog i/ili životinjskog porijekla**

U skupinu bakterija ljudskog i/ili organizma kopnenih životinja nabrajaju se: *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus* (Huss, 1997).

##### **2.1.2.3.1. *Salmonella* sp.**

Rod *Salmonella* sastoji se od gram-negativnih vrsta koje pripadaju obitelji Enterobacteriaceae. Ovaj rod bakterija uzrokuje bakterijsku infekciju u ljudima i životinjama, salmonelozu (Branner i sur., 2000). Prema Centru za kontrolu bolesti (CDC) postoje samo dvije vrste ovog roda: *S. enterica* i *S. bongori* koje se zatim dijele u više podvrsta te u serotipove (Huss i sur., 2004). Salmoneloza je bakterijska infekcija crijeva koja se javlja od 8 do 72 sati nakon konzumacije zaražene hrane a njezini simptomi su: mučnina, bolovi u trbuhu, proljev i vrućica (D'Aust, 2000). Iako se smatra da je konzumacija morskih plodova rijetki način za oboljenje, u zadnjim godinama bilježi se porast slučajeva oboljenja od salmoneloze pri



konzumaciji kontaminiranih morskih plodova. Da bi došlo do bolesti, potrebno je unijeti u organizam  $10^6$  stanica. Rezervoar *Salmonelle* sp. je gastrointestinalni trakt (Huss i sur., 2004). Među svim vrstama školjkaša koji se uzgajaju u priobalnoj kontaminiranoj vodi, najveći rizik predstavljaju kamenice iz razloga što se najčešće konzumiraju sirove (Ahmed, 1991). Priobalne vode su najčešće kontaminirane kanalizacijskim otpadom te se time povećava rizik za sve organizme koje obitavaju u priobalnom staništu (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.3.2. *Shigella* sp.**

Rod *Shigella* čine četiri patogene vrste bakterija. *Shigella* sp. uzrokuje zaraznu bolest, šigelozu s zabilježenih stotinu tisuća smrtnih slučajeva (Huss i sur., 2004). Bakterije se prenose od osobe do osobe, gdje su ljudi glavni rezervoar (Lampel i sur., 2000). U vodeni okoliš dolaze putem otpadnih voda te filtracijom ulaze u školjkaše gdje se mogu zadržavati do 6 mjeseci (Wachsmuth i Moriss, 1989; Feldhusen, 2000). Dokazano je da je najveća abundacija ove bakterije u ljetnim mjesecima. Kako bi došlo do oboljenja, potrebno je da se u organizam unosi od 10 do 100 bakterijskih stanica nakon čega se pojavljuju prvi simptomi: bolovi u trbuhu, povraćanje, vrućica i proljev (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.3.3. *Escherichia coli***

Vrsta *E.coli* pripada rodu *Escherichia*, obitelji Enterobacteriaceae. Fakultativno je anaerobni organizam koji obitava u probavnom traktu ljudi i životinja. Dijelev se u dvije skupine: nepatogene i patogene. Nepatogene bakterije su značajne za održavanje flore u crijevima. Patogene se razlikuju ovisno o simptomima i O:H antigenima (Huss i sur., 2004). Prema Doyle i sur. (1997) najpoznatije skupine patogenih *E. coli* su:

- enteropatogena *E. coli* (EPEC) koji uključuju simptome kao što su proljev, povraćanje i vrućica;
- enterotoksična *E. coli* (ETEC) čiji je jedini simptom proljev;
- enteroinvazivna *E. coli* (EIEC) čiji je jedini simptom proljev;
- difuzno adherentne *E. coli* (DAEC) čiji je jedini simptom proljev;
- enteroagregativna *E. coli* (EAaggEC) čiji je jedini simptom proljev;
- enterohemoragična *E. coli* (EHEC) čiji su simptomi proljev i bolovi u bubregu.

*E. coli* ne obitava u vodenom okolišu, no može dospjeti u školjkaše putem fekalno kontaminirane vode u kojoj se može razmnožavati (Rhodes i Kator, 1988; Jiménez i sur., 1989; Huss i sur., 2004). Upravo iz tog razloga, *E. Coli* je indikator fekalne kontaminacije

vode koji zatim ukazuje na moguću prisutnost patogenih bakterija (Jackson i Ogburn, 1999). Optimalna temperatura za rast ovih mikroorganizama je 37°C te ne podnose niske temperature, povišenu razinu soli i zakiseljavanje. Njihova inaktivacija se također može obavljati povišenom temperaturom, odnosno termičkom obradom namirnica (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.3.4. *Campylobacter jejuni***

*C. jejuni* je gram-negativna bakterija koja pripada rodu *Campylobacter* obitelji Campylobacteriaceae. Ova vrsta mikroorganizma izaziva gastrointestinalnu bolest. 11 dana nakon konzumacije kontaminirane hrane javljaju se: bolovi u trbuhu, vrućica i proljev. Bilježi se da je *C. jejuni* povezana s Guillain-Barréov sindromom (GBS) (Huss i sur., 2004). GBS je neurološka bolest koja izaziva paralizu ljudskog tijela. Rast mikroorganizma je onemogućen pri temperaturi iznad 28°C, te ne podnosi visoke temperature, kiseline i visoke količine kisika. Teško ga je pronaći u otvorenom moru, ali se zato akumuliraju u organizmima koji filtriraju vodu (Huss i sur., 2004).

#### **2.1.2.3.5. *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* je gram-pozitivna bakterija koja pripada rodu *Staphylococcus*. Mikroorganizam izaziva intoksikaciju. Prije konzumacije u hrani stvaraju se enterotoksini od približno 27 kD. Za njihovu inkubaciju potrebno je od 2 do 4 sata, a simptomi koji se javljaju su: mučnina, povraćanje i proljev. Bolest može trajati od 24 do 48 sati. Da bi se spriječio rast ove bakterije dovoljno je hlađenje, dok zagrijavanje pri velikim temperaturama nema znatan učinak na inaktivaciju toksina (Huss i sur., 2004).

### **2.1.3. Biotoksini**

Morski ekosustav sastoji se od preko 4000 vrsta morskih jednostaničnih algi odnosno fitoplanktona. Poznato je da 2% ukupnog broja morskih alga proizvodi otrovne supstance, toksine (Scoging, 1998). Toksini se proizvode u velikim količinama, a većina njih može izazvati smrt (Hall 1991, Shumway, 1990). Toksični fitoplankton je prepoznatljiv po tome što je većina karakterizirana crveno-smeđom bojom, iako treba uzeti u obzir da nisu sve pigmentirane alge toksične. Često se crveno-smeđe alge masovno razmnožavaju što dovodi do prirodne pojave poznate kao cvjetanje algi ili cvjetanje mora, karakterizirano crvenom bojom. Pri cvjetanju mora abundancija mikroalgi iznosi od 20 000 do 50 000 stanica alga po mililitru (Huss i sur., 2004). Školjkaši filtrirajući 8 L morske vode na sat unesu u svoj

organizam hranjive tvari i toksine koji se nalaze u okolnoj morskoj vodi. Toksini se u školjkašima akumuliraju u hepatopankreasu. Konzumacija morskih plodova koji u sebi imaju biotoksine dovodi do intoksikacije. Trovanje školjkaša može biti: paralitičko (PSP), amnestičko (ASP), dijareično (DSP), neurotoksično (NSP) i azaspiracidno (AZP). PSP uzrokovano je dinoflagelatima roda *Alexandrium*, *Gymnodium* i *Pyrodinium*. ASP uzrokovano je dijetomejama. Dinoflagelati roda *Dinophysis* i *Prorocentrum* uzrokuju DSD. NSP je uzrokovana dinoflagelatima *Gymnodinium breve* dok dinoflagelati *Protoperdinium* sp. uzrokuju AZP. Prvi simptomi koji se javljaju pri konzumaciji školjkaša su: dijareja, povraćanje, gubitak pamćenja i u težim slučajevima, smrt. Depuracija toksičnih školjkaša može smanjiti razinu prisutnih toksina (Huss i sur, 2004).

#### **2.1.4. Paraziti**

U morskim organizmima osim virusa, bakterija i biotoksina mogu se nalaziti i paraziti. Više od 50 postojećih vrsta parazita predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje. Dije se u tri skupine: Nematode, Cestode i Trematode. Do oboljenja čovjeka dolazi pri konzumaciji zaražene hrane koja je nedovoljno termički obrađena ili slabo sačuvana (Huss i sur., 2004).

U skupinu Nematoda, nabrajamo sljedeće vrste parazita: *Anisakis* sp., *Gnathostoma* sp., *Capillaria philippensis*, *Angiostrongylus* sp. (Huss i sur., 2004.)

U skupinu Cestoda kao jedina vrsta parazita nabraja se *Diphyllbothrium* sp. (Huss i sur., 2004).

U skupinu Trematoda, nabrajamo sljedeće vrste parazita: *Clonorchis* sp., *Opisthorchis* sp., *Heterophyes* sp., *Paragonimus* sp., *Metagonimus yokagawai* (Huss i sur., 2004).

Iako ne postoji puno dokaza koji ukazuju da su školjkaši prenosioci parazitalnih infekcija *Giardia* sp i *Cyptosporidium* sp. su pronađeni u crijevima školjkaša (Fayer i sur, 1997)

#### **2.2. Kemijski agensi**

U moru, osim bioloških agenasa, nalaze se i kemijski agensi poznatiji kao kemijske tvari. Njihova povećana koncentracija i produžena izloženost mogu imati štetne posljedice za ljudski organizam. Posljedice koje se mogu javljati uključuju neurološka oštećenja i

mogućnost nastanka tumora (Huss i sur., 2004). Postoje 3 skupine kemijskih agenasa koji, pri većim koncentracijama, mogu biti toksični a to su (Ahmed, 1991):

- anorganske tvari: arsen, kadmij, olovo, živa, selen, sulfid;
- organski spojevi: poliklorirani bifenili, dioksini, klorirani ugljikovodici;
- spojevi koji se primjenjuju u primarnoj proizvodnji, gdje spada i akvakultura: nitrosamini, antibiotici, hormoni.

Kemijske tvari u vodenom okolišu najčešće dospijevaju iz industrije, poljoprivrede i kanalizacijskim otpadom gdje se zatim akumuliraju u okolnu morsku vodu i u morskim organizmima. Predatori imaju najveću koncentraciju kemijskih tvari. Količina kemijskih tvari u morskim plodovima ovisi o lokaciji, topljivosti tvari, vrsti i veličini školjakaša. Najveći rizik predstavljaju filtratorski organizmi kao što su školjkaši zbog svog načina ishrane te iz razloga što se nalaze u priobalnim vodama koje su vrlo često zagađene (Huss i sur., 2004).

### **2.3. Fizikalni agensi**

U fizikalne agense ubrajaju se sve fizikalne tvari koje se u prirodnim okolnostima ne nalaze u hrani, te predstavljaju rizik za školjkaše i za ljudsku konzumaciju. Fizikalni agensi su: prljavština, drvo, staklo, plastika, kosti, kamenje i slično. Ako se navedeni agensi nalaze u hrani, u ljudski organizmu mogu izazvati različite ozljede i gušenje. FDA ukazuje da strani predmeti veličine do 7 mm neće izazvati opasne štete (FDA, 1998). Nečistoće na školjkašima mogu povoljno utjecati na umnažanje mikroorganizama te negativno na efikasnost procesa depuracije (Gavrilović i Jug-Dujaković, 2016).

### 3. ZDRAVSTVENA ISPRAVNOST ŠKOLJKAŠA

Uloga svakog sustava za depuraciju je osigurati zdrav, ispravan proizvod namijenjen za ljudsku prehranu te je time potrebno zadovoljiti zakonske propise vezane za plasman školjkaša na tržište. Najznačajniji propisi za osiguranje ispravnog proizvoda su:

- Zakon o hrani (NN, 46/07 i 155/08);
- Pravilnik o higijeni hrane (NN, 99/07.a);
- Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07.b);
- Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07.c);
- Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja (NN, 99/07.d).
- Pravilnik o veterinarsko-zdravstvenim uvjetima za izlov, uzgoj, pročišćavanje i stavljanje u promet živih školjkaša (NN, 117/14)
- Plan praćenja kakvoće mora i školjkaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjkaša (NN, 82/14)

Prikupljanje živih školjkaša u Hrvatskoj i Europi obavlja se na utvrđenim područjima koji su, ovisno o razini fekalne kontaminacije, raspodijeljeni u tri razreda: A, B i C. Područja namijenjena za izlov i uzgoj školjkaša te područja za ponovno polaganje određena su od strane nadlažnog tijela u skladu s Pravilnikom o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07). Navedena se područja periodički provjeravaju prema propisanom rasporedu, kako bi se osigurala prikladna mikrobiološka kakvoća školjkaša. Osim toga, prate se prisutnost toksičnog fitoplanktona i kemijskih kontaminanta u organizmima školjkaša. Ukoliko rezultati ukazuju da uvjeti područja nisu zadovoljavajući, zabranjuje se prikupljanje školjkaša a područje se zatvara. Područje se može otvoriti ukoliko, nakon određenog vremenskog perioda, zadovoljava propisane uvjete. Zabranu za plasiranje na tržištu imaju svi školjkaši koji nisu prikupljeni ili izlovljeni na odobrenim lokacijama ili koji nisu zdravstveno ispravni za konzumaciju (NN, 99/07).

Bakterija *Escherichia coli* se sukladno propisima EU i Hrvatske upotrebljava kao indikatorski organizam sanitarne kakvoće mora na području uzgoja i izlova školjkaša. Indikatorski organizam ili bioindikator je određeni organizam koji ukazuje na moguću prisutnost kontaminanata u određenom području ili u određenom organizmu, u ovom slučaju,

u okolnoj morskoj vodi te u školjkašima. *E. coli* se upotrebljava kao bioindikator fekalnog zagađenja iz razloga što ovaj organizam nije tipičan za vodeni sustav te u njega dolazi putem kanalizacijskog otpada. Pronalazimo ga u fecesu ljudi i životinja. Iz toga proizlazi da ukoliko je voda fekalno kontaminirana, u uzorku morske vode pronaći će se visoka koncentracija *E. coli* (Jackson i Ogburn, 1999). Odsutnost ili niska razina bioindikatora ne mora nužno označavati i odsutnost ostalih patogenih bakterija (Kfir i sur., 1993), ali njihova prisutnost svakako povećava vjerojatnost prisutnosti humanih patogenih bakterija ili virusa. Školjkaši se hrane filtracijom morske vode, a ovisno o području u kojem se nalaze unose u organizam sve prisutne tvari, uključujući i kontaminante. Iako se osim *E. Coli*, kao bioindikatorski organizmi mogu koristiti fekalni i ukupni koliformi, sukladno zakonskoj regulativi, kontrolira se samo prisutnost *E. coli*. Fekalni koliformi su skupina crijevnih bakterija koji pripadaju obitelji Enterobacteriaceae te uključuju rodove kao što su *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter* i sl. Ukupni koliformi su skupina bakterija koji se mogu pronaći u svim ekosustavima (Jackson i Ogburn, 1999).

Školjkaši prikupljeni/izloveljeni iz razreda A, nakon zakonski obaveznog pakiranja u otpremnom centru, namijenjeni su izravnoj prehrani ako zadovoljavaju zahtjeve propisane Pravilnikom o higijeni hrane životinjskog porijekla (NN, 99/07.b) kao što su:

- mikrobiološki kriteriji: koncentracija *E. Coli* u 100 g mesa i međuljuštune tekućine treba biti manja od 230 cfu;
- organoleptična svojstva: oblik, veličina, svježina i sl.;
- čista ljuštura;
- normalna količina međuljuštune tekućine.

Školjkašima prikupljenim/izloveljenim iz razreda B, prije pakiranja u otpremnom centru, obavezno je potrebno pročistiti probavni trakt u sustavu za depuraciju kako bi se postigli mikrobiološki kriteriji razreda A. Osim toga, potrebno je da udovoljavaju zahtjevima propisanim u Pravilniku o higijeni hrane životinjskog porijekla (NN, 99/07.b) kao što su:

- mikrobiološki kriteriji: koncentracija *E. Coli* u 100 g mesa i međuljuštune tekućine treba biti viša od 230 i manja od 4600 cfu;
- organoleptična svojstva: oblik, veličina, svježina i sl.;
- čista ljuštura;
- normalna količina međuljuštune tekućine.

Školjkaši prikupljeni iz razreda C, prije pakiranja u otpremnom centru, moraju proći proceduru ponovnog polaganja (ne smiju biti izloveljeni/prikupljeni prije nego koncentracija *E. coli* ne bude niža od one za razreda B) te trebaju zadovoljavati zahtjevima propisanim u Pravilniku o higijeni hrane životinjskog porijekla (NN, 99/07.b) kao što su:

- mikrobiološki kriteriji: koncentracija *E. Coli* u 100 g mesa i međuljuštune tekućine treba biti viša od 4600 cfu;
- organoleptična svojstva: oblik, veličina, svježina i sl.;
- čista ljuštura;
- normalna količina međuljuštune tekućine.

Različitim istraživanjima ukazano je da početna koncentracija fekalnih mikroorganizama prisutna u školjkašima utječe na efikasnost postupka depuracije. Ukoliko se u školjkašima nalazi prevelika početna koncentracija kontaminanata, mogućnost uspješne depuracije odnosno ispuštanja svih prisutnih mikroorganizama je znatno niža. Također, povišena početna koncentracija mikroorganizama u probavnom sustavu ukazuje na potrebu produljenog trajanja cjeloukupnog procesa (Jackson i Ogburn, 1999). Istraživanjima je dokazano da depuracija nema značajan utjecaj na školjkašima s početnom koncentracijom od > 5000 *E. coli* u 100 g mesa. Razlog tome je što, u ovom slučaju, školjkaši s više od 5000 *E. coli* u 100 g mesa (razred C) neće dostići mikrobiološku ispravnost odnosno koncentraciju 230 *E. coli* u 100 g mesa (de Mesquita i sur., 1991).

U Kanadi i USA-u klasifikacija područja namijenjenog za uzgoj i prikupljanje školjkaša odvija se prema Nacionalnom programu sanitacije školjkaša (NSSP), a područja dijele se u:

- odobreno područje: iz proizvodnog područja školjkaši su namijenjeni izravnoj prehrani;
- uvjetno odobreno područje: voda ovog područja je ponekad izložena bakterijskoj kontaminaciji. Državna agencija za kontrolu školjkaša (SSCA) provodi sanitarna istraživanja vode te odlučuje je li potrebno zatvoriti proizvodno područje;
- ograničeno područje: školjkaši trebaju pročistiti probavni trakt u sustavu za depuraciju te se zatim mogu plasirati na tržište;

- uvjetno ograničeno područje: voda ovog područja je ponekad izložena visokoj kontaminaciji te depuracija nema pozitivan učinak. Područje je zatvoreno onoliko koliko je potrebno da voda zadovolji sanitarne uvjete;
- zabranjeno područje: vode ovog područja su visoko kontaminirane te depuracija nema pozitivan učinak na školjkaše. Zabranjeno je izlovljavanje ili sakupljanje;
- neklasificirano područje: u ovim područjima se ne provode sanitarna istraživanja te je zabranjeno uzorkovanje školjkaša.

Kako bi se osigurala zdravstvena ispravnost školjkaša za plasiranje istih na svjetsko tržište potrebno je slijediti određeni lanac. Početak lanca sastoji se od uzgoja odnosno rasta školjkaša do određene komercijalne veličine prikladne za tržište. U trenutku kada su školjkaši dospjeli komercijalnu veličinu potrebno ih je prikupiti. Nakon prikupljanja školjkaši se operu te se uklanjaju nečistoće s ljuštura (Jackson i Ogburn, 1999). Prema Pravilniku o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07), pri i nakon prikupljanja školjkaša moraju se zadovoljiti sljedeći uvjeti:

- način prikupljanja i rukovanja mora biti takav da spriječava kontaminaciju organizma;
- način prikupljanja i rukovanja mora biti takav da ne uzrokuje oštećenja ljuštura i/ili tkiva školjkaša;
- školjkaši moraju biti zaštićeni kako bi se spriječilo fizički stress;
- školjkaši trebaju biti izloženi temperaturama koje nalikuju njihovom prirodnom okolišu;
- školjkaši se ne smiju ponovno uranjati ili uranjati u kontaminiranu vodu.

Ukoliko se ne uklone nečistoće s ljuštura ili ukoliko školjkaši nisu dovoljno oprani, može doći do kontaminacije prije, tijekom i poslije depuracije. Kontaminacija prije depuracije može uslijediti ukoliko osoblje koje rukuje hranom boluje od zarazne bolesti te se time bolest prenosi od osoblja na hranu s kojom rukuje. Prema Pravilniku o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07) osoblje koje rukuje školjkašima mora zadovoljiti sljedeće uvjete:

- osoblje otpremnog centra i centra za pročišćavanje treba pridržavati se osobne čistoće;
- osoblje treba imati odjeću za rad te zaštitnu odjeću;



- osoblje koje boluje od zarazne bolesti, ima infekcije ili rane ne smije se nalaziti u prostorijama navedenih objekta te ne smije dolaziti u doticaj s hranom.

Kontaminacija tijekom samog procesa pročišćavanja javlja se iz razloga što nečistoće sa ljuštura povećavaju turbiditet vode u tankovima što će posljedično smanjiti efikasnost dezinfekcije (Jackson i Ogburn, 1999). Potrebno je napomenuti da se kontaminanti ispuštaju u obliku fekalija te da je tijekom procesa važno spriječavati suspenziju fekalija tako što će sustav efikasno svojim komponentama uklanjati mehaničke nečistoće. Ukoliko se feces podigne sa dna tanka, kontaminanti će se ponovno pronaći u okolnoj morskoj vodi koju školjkaši filtriraju. Ovim će postupkom organizmi biti neprestano kontaminirani. Kako nebi došlo do rekontaminacije kada se rad sustava zaustavi nakon postupka potrebno je da se voda ispusti ispod razine posuda u kojima se nalaze školjkaši. Osim resuspenzije, do ponovne kontaminacije može doći i u slučaju kada se, tijekom trajanja procesa, dodavaju ili uklanjaju školjkaši iz tankova. Navedeno zakonski nije dopušteno, i nove školjkaše dozvoljeno je ubaciti u sustav kada je prethodni ciklus završio, školjkaši izvađeni iz sustava, a sustav očišćen. Sukladno preporukama, postupak depuracije traje 42 ili 48 sati. Jedan od čestih razloga rekontaminacije javlja se kada se tankovi nalaze u prostorijama bez krova ili kada tankovi nemaju prikladan poklopac koji spriječava ulazak stranih tijela iz okolnog zraka (Bark, 2007).

Pri završetku procesa purifikacije i pražnjenja tankova, slijedi zakonski propisano pakiranje i deklariranje u otpremnom centru te transport školjkaša na tržište. Ljuštore su zatvorene što spriječava ulazak stranih čestica u organizam. Na tržište školjkaši dolaze živi i samo se takvi mogu prodavati (Jackson i Ogburn, 1999). Svaki subjekt koji posluje s hranom, osim navedenih zakona za osiguranje ispravnog proizvoda, mora se pridržavati HACCP (eng. *Hazard Analysis Critical Control Point*) plana. HACCP je sustav koji prepoznaje različite opasnosti i spriječava njihov nastanak tijekom proizvodnje proizvoda. Opasnosti ili hazardi su: biološki, kemijski i fizikalni. HACCP prati cjelokupan proces depuracije, od uzorkovanja do rukovanja školjkašima (Jackson i Ogburn, 1999).

## 4. PROCES DEPURACIJE

### 4.1. Povijest depuracije školjkaša

Depuracija je praksa koju su mnoge mediteranske zemlje koristile u prošlom stoljeću u svrhu promicanja samopročišćavanja školjkaša pod kontroliranim uvjetima (Canzonier, 1988). U prvim pokusima novootkrivene prakse uveden je postupak dezinfekcije vode. Korišteno sredstvo za sterilizaciju vode bio je kalcijev hipoklorit  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ . Prvih nekoliko godina, u Sjedinjenim Američkim Državama, jedina vrsta školjkaša koja je bila podvrgnuta purifikaciji bile su kamenice. Primjećujući pozitivan učinak procesa na zdravstvenu ispravnost proizvoda, depuracija se počela primijenjivati na sve vrste školjkaša, uključujući i *M. galloprovincialis*. Nekoliko godina kasnije, u sustavu za pročišćavanje, uvedeno je ultraljubičasto zračenje (UV) kao novo sredstvo za dezinfekciju korištene morske vode (Dressel i Snyder, 1991).

Epidemija tifusne groznice u Sjevernoj Americi potakla je uvođenje depuracije. Znanstvenici su tifuznu groznicu povezivali s konzumacijom sirovitih školjkaša te je upravo proces purifikacije bio koristan u smanjenju broja slučajeva zaraženih epidemijom (Canzonier, 1991.). Primjer širenja epidemije tifuzne groznice bilježi se 1920-ih godina s konzumacijom kontaminiranih istočnih kamenica *Crassostrea virginica*. Ovaj je slučaj potaknuo raspravu o pročišćavanju kao nužan proces za prevenciju bolesti. Uspostavljeni su mikrobiološki standardi za uzgoj školjkaša te klasifikacija uzgojnih područja (Dressel i Snyder, 1991). Korišteni indikatori za utvrđivanje sanitarne kakvoće morske vode su koliformne bakterije, odnosno ukupna količina koliformna u litru morske vode. Proces depuracije se iz Amerike ubrzo proširio širom svijeta te su Otwell *et al.* (1991) pisali o postupcima purifikacije u SAD-u, Kanadi, Velikoj Britaniji, Španjolskoj, Francuskoj, Danskoj, Italiji, Turkoj, Jugoistočnoj Aziji, Australiji i Novom Zelandu.

Depuracija se 1991. godine u SAD-u praktirala isključivo u tri države: Maine, Massachusetts i Florida. Iako se proces pročišćavanja školjkaša koristi širom svijeta, u Australiji se obavljao samo u državi Novog Južnog Wales-a (NSW) (Dressel i Snyder, 1991). Depuracija je uvedena 1978. godine u NSW nakon 2000 slučajeva intoksikacije hranom. Trovanje se pojavilo kao posljedica konzumacije školjkaša uzgojenih u rijeci Georges. Intoksikacija je dovela do crijevne infekcije - virusnog gastroenteritisa (Linco i Grohmann, 1980; Murphy i sur., 1979). Do 1970.-ih godina, znanstvenici nisu posvetili dovoljnu pažnju u istraživanju sanitarne kakvoće estuarija u NSW-u, što je dovelo do nedostatka informacija. Nakon velikog porasta broja kliničkih slučajeva intoksikacije, od 1978. do 1981. godine

provodila su se istraživanja u svrhu klasificiranja uzgojnih područja prema zdravstvenom riziku. Od 1978. do 1982. godine pročišćavali su se školjkaši iz svih estuarija klasificirani kao visoko rizičnim no, od 1983. godine proces depuracije je postao zakonska obaveza za sve školjkaše namijenjeni za prodaju u NSW-u (Ayres, 1991). Danas je ovaj proces zakonska obaveza uzgajivača u velikom broju zemlja širom svijeta.

#### **4.2. Zakonski uvjeti za depuracijske i otpremne centre za školjkaše**

Depuracija je kontrolirani proces koji sprječava negativne posljedice za javno zdravlje ljudske populacije pri konzumaciji svake vrste školjkaša (Bark, 2007). Ovaj proces se odvija u centru za pročišćavanje. Centar za pročišćavanje je, kao što sama riječ kaže, objek u kojem se vrši pročišćavanje odnosno depuracija probavnog trakta školjkaša. Proces purifikacije odvija se u posebnim tankovima koji sadrže steriliziranu morsku vodu (NN, 117/04). Prema Pravilniku o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07.b) centri za pročišćavanje moraju zadovoljiti sljedeće uvjete:

- prije same depuracije potrebno je da se vodom uklone nečistoće koje se nalaze na ljušturama organizma;
- sustav mora omogućiti školjkašima normalnu aktivnost filtracije;
- sustav mora omogućiti aktivno izbacivanje kontaminanta iz školjkaša;
- sustav mora spriječiti mogućnost rekontaminacije;
- sustav mora omogućiti da školjkaši, pri završetku filtriranja, budu ispravni za konzumaciju;
- potrebno je pridržavati se kapaciteta tanka kako bi se, tijekom procesa, omogućilo otvaranje ljuštura;
- proces depuracije treba trajati minimalno 42 sata a maksimalno 48 sati;
- tankovi trebaju biti prikladni za određenu količinu i vrstu organizma koji se pročišćava;
- tankovi mogu sadržavati samo jednu vrstu organizma;
- organizmi koji su se pročistili trebaju imati oznaku koja utvrđuje uspješnu depuraciju;

Centar za pročišćavanje može bit zaseban, ili može biti u sklopu otpremnog centra, te ga u tom slučaju nazivamo otpremno-purifikacijski centar. Iako su otpremni centri i centri za pročišćavanje u Hrvatskoj u malenom broju, njihov broj se znatno povećava u zadnjih par

godina. Otpremni centar je objekt koji posluje s hranom te se može nalaziti na obali ili na moru. Otpremni centri na obali ne smiju biti smješteni na lokaciji koja je, sama po sebi, podložna poplavama (Jug-Dujaković i sur., 2011). Školjkaši prikupljeni iz razreda A, iz područja za ponovno polaganje ili iz centra za pročišćavanje završavaju u otpremnom centru gdje se peru i uklanjaju nečistoće s ljuštura (NN, 99/07). Pranje se odvija pomoću čiste morske vode ili pomoću pitke vode (NN, 117/04). Školjkaši se zatim sortiraju prema obliku i veličini te su napokon spremne za pakiranje. Otpremni centar ne smije rukovati sa školjkašima koji sadrže štetne mikroorganizme ili za koje se sumnja da su kontaminirani mikroorganizmima u tolikoj mjeri da bi, nakon procesa pročišćavanja, školjkaši postali zdravstveno neprikladni za konzumaciju (Jug-Dujaković i sur., 2011). Pakiranje, koje na sebi ima vodootpornu deklaraciju i identifikacijsku oznaku, ostaje zatvoreno sve do same prodaje proizvoda. Podaci koje se nalaze na vodootpornoj deklaraciji su: zemlja podrijetla, hrvatski i latinski naziv organizma, datum pakiranja, oznaku serije, rok trajanja (NN, 117/04).

Prema Pravilniku o higijeni hrane (NN, 99/07.a) otpremni centri i centri za pročišćavanje moraju zadovoljiti sljedeće uvjete:

- trebaju se ukloniti nečistoće;
- trebaju biti u dobrom stanju;
- trebaju imati odgovarajući čisti prostor za rad;
- trebaju spriječavati akumulaciju štetnih tvari;
- trebaju osiguravati odgovarajuću temperaturu za rukovanje i skladištenje organizma;
- trebaju imati zahode, sa toplom i hladnom vodom, koji su udaljeni od prostora u kojima se nalazi hrana. Zahodi trebaju biti opremljeni s papirnatim ručnicima i/ili uređajem za sušenje;
- trebaju imati sustave za izmjenu zraka koji ne smije dolaziti iz onečišćene okoline u čistu prostoriju;
- trebaju imati osvjetljenje u cijeloj prostoriji kako bi se omogućio rad. Rasvjetla može biti prirodna ili umjetna. Umjetna rasvjetla trebaju biti prekrivena za spriječavanje nakupljanja nečistoća;
- trebaju imati sustav za odvod koji ne smije izazvati rekontaminaciju;
- trebaju imati posebnu prostoriju za garderobu;
- trebaju imati posebnu prostoriju za opremu za čišćenje;

- trebaju imat sustav za opskrbu morske i prirodne vode;
- trebaju imati spremnike za otpad.

Prema Pravilniku o higijeni hrane (NN, 99/07.a) prostorije u kojima se rukuje sa školjlašima moraju zadovoljiti sljedeće uvjete:

- podne površine trebaju biti čiste te trebaju omogućiti jednostavno čišćenje i/ili dezinfekciju. Materijal od kojeg su sagrađene podne površine je od glatkog, nepropusnog, neupijajućeg i neotrovnog materijala. Materijal treba biti otporan na kemikalije i ne smije sadržavati pukotine radi sprječavanja akumulacije nečistoća;
- zidne površine trebaju biti čiste te trebaju omogućiti jednostavno čišćenje i/ili dezinfekciju. Materijal od kojeg su sagrađene zidne površine je od glatkog, nepropusnog, neupijajućeg i neotrovnog materijala. Materijal treba biti čvrst, otporan na udarce i ne smije sadržavati pukotine radi sprječavanja akumulacije nečistoća;
- stropovi trebaju biti čisti te trebaju omogućiti jednostavno čišćenje i/ili dezinfekciju. Materijal od kojeg su sagrađeni stropovi treba biti gladak bez pukotina radi sprječavanja akumulacije nečistoća;
- prozori trebaju sprječavati nakupljanje nečistoća i/ili trebaju imati zaštitnu mrežu koju je moguće ukloniti po potrebi;
- vrata trebaju omogućiti jednostavno čišćenje i/ili dezinfekciju. Materijal od kojeg su sagrađena vrata je neupijajući, a površina treba biti glatka radi sprječavanja akumulacije nečistoća;
- površine koje dolaze u doticaj s hranom trebaju biti čiste te trebaju omogućiti jednostavno čišćenje i/ili dezinfekciju. Materijal od kojeg su sagrađene površine za rukovanjem hranom su od neotrovnog materijala, a njegova površina treba biti glatka. Treba posvetiti posebnu pozornost da materijal od kojeg je sagrađena površina ne izaziva nastanak korozije;

Prema Pravilniku o higijeni hrane (NN, 99/07.a) prostorije za čišćenje, dezinfekciju i prostorije za opremu trebaju omogućiti čišćenje i biti sagrađene od materijala koji ne izaziva koroziju.

Prema Pravilniku o higijeni hrane (NN, 99/07.a) oprema koja dolazi u dodir sa školjkašima mora zadovoljiti sljedeće uvjete:

- treba biti čista i dezinficirana. Da bi se izbjegla rekontaminacija, čišćenje i dezinfekcija trebaju biti provedene vrlo često;
- trebaju biti izrađeni od materijala koji spriječava ponovnu kontaminaciju;
- treba postaviti kontrolni uređaj (npr. za mjerenje temperature).

#### **4.3. Osnove postupka depuracija**

Purifikacija i pročišćavanje su sinonimi za depuraciju. To je proces kojim se živi školjkaši sakupljeni za tržište stavljaju u pogone gdje se sadržaj njihovog probavnog sustava pročišćava čistom morskom vodom u kontroliranim uvjetima (Jackson i Ogburn, 1999; Bark, 2007). Ovim se procesom ne može osigurati da će organizam ispustiti sve kontaminante no, potvrđeno je da depuracija uklanja prisutne fekalne bakterije iz organizma kao što je *E. Coli* (Bark, 2007; Souness i Fleet, 1979). Ovim procesom teže se uklanja *Vibrio* sp. (Eyles i Davey, 1984; Groubert i Oliver, 1994; Rowse i Fleet, 1984; Tamplin i Capers, 1992), a spamanjuje se koncentracija prisutnih virusa (Bark, 2007).

Prije samog polaganja školjkaša u tankove namijenjene za depuraciju, potrebno je osigurati da organizam bude u dobrom fiziološkom stanju odnosno bez raznih oštećenja. Nužno je također temeljno očistiti ljušturu od nečistoća. Školjkaši su osjetljivi organizmi, posebno na promjenu temperature, saliniteta, količinu kisika i vrijednosti pH. Pri sakupljanju ovih organizama, potrebno je posvetiti posebnu pozornost na način uzorkovanja. Nagle promjene ambijentalnih uvjeta i neadekvatno izlovljavanje mogu izazvati fizički stres što zatim utječe na uspješnost pročišćavanja probavnog sustava. Jedan od najvažnijih uvjeta za efikasnu depuraciju jest da se u jednom tanku smiju pročišćavati isključivo organizmi iste vrste i iste klase proizvodnog područja (Bark, 2007).

#### **4.4. Kvaliteta vode u sustavu za depuraciju**

Za efikasno pročišćavanje sadržaja crijeva školjkaša, potrebno je da se korištena morska voda u procesu sterilizira. Ukoliko je voda mikrobiološki ispravna, smanjuje se opasnost kontaminiranja potrošača, osigurajući ispravan proizvod za ljudsku prehranu. Osim uporabe sterilne vode, za uspješnu depuraciju, potrebno je uroniti školjkaše u tankovima određeno vremensko razdoblje (NSW Food Authority, 2005). Kako bi proizvod bio mikrobiološki ispravan, a postupak ekonomski isplativ, preporuka CEFAS-a (eng. *Centre for Environment*,

*Fisheries and Aquaculture Science*) je da purifikacija traje minimalno 42 sata, dok bi maksimalni period bio 48 sati (Bark, 2007).

Ukoliko je sustav za prečišćavanje recirkulacijski, što je u današnje vrijeme najčešći slučaj, morska voda se može upotrebljavati za više ciklusa s uvjetom da bude prikladne mikrobiološke kvalitete. Prirodna morska voda može se koristiti od dva do četiri tjedna iz razloga što dolazi do visoke akumulacije štetnih kemijskih agenasa u morskoj vodi. Bitno je naglasiti da je amonijak razlog zbog kojeg je dopušteno koristiti istu morsku vodu za maksimalni period od četiri tjedna. Amonijak u većim količinama može spriječiti normalnu aktivnost filtracije školjkaša te na taj način umanjuje efikasnost procesa depuracije (Bark, 2007).

Umjetna morska voda ima ograničenje korištenja do četiri tjedna uz uvjet da se pri završetku svakog ciklusa zamijeni 10% vode. Cilj depuracije jest proizvesti mikrobiološki ispravni proizvod prikladan za ljudsku konzumaciju (Bark, 2007).

#### **4.4.1. Parametri kvalitete vode**

Tijekom pročišćavanja treba omogućiti školjkašima aktivno i konstantno filtriranje morske vode. Otopljeni kisik, salinitet, temperatura, protok vode i turbiditet su parametri koji zahtijevaju posebno praćenje kako bi se omogućilo aktivno i konstantno filtriranje (Bark, 2007).

##### **4.4.1.1. Otopljeni kisik (DO)**

Otopljeni kisik ili DO (eng. *dissolved oxygen*) odnosi se na razinu plinovitog kisika ( $O_2$ ) otopljen u vodenoj otopini. Plinoviti kisik je slobodan i ne veže s drugim kemijskim elementima. Otopljeni kisik je potreban svim morskim organizmima i većini mikroorganizmima, a potrebna količina varira o vrsti organizma. ([www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/#1](http://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/#1)). Potrebno je da voda koja se koristi u tankovima za depuraciju bude opskrbljena dovoljnom količinom kisika. Kako bi školjkaši bili u mogućnosti provoditi normalnu aktivnost filtriranja tijekom cijelog procesa nužno je pridržavati se minimalne razine otopljenog kisika. Dobro projektirani sustavi za pročišćavanje imaju znatno veću razinu kisika. Čimbenici koji utječu na razinu otopljenog kisika su: omjer površine vode i volumena vode, jačina protoka vode, omjer količine školjkaša i volumen vode, temperatura vode,

metabolički stupanj školjkaša tijekom pročišćavanja, salinitet i način aeracije koji sustav koristi. Navedeni čimbenici se u efikasnom sustavu moraju strogo kontrolirati (Bark, 2007).

#### 4.4.1.2. Salinitet

Salinitet je ukupna količina otopljenih soli u određenom volumenu vode. Salinitet se izražava u promilima (‰) ili u gramima po kilogramu (g/kg). ([www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=54191](http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=54191)). U sustavima za depuraciju potrebno je osigurati da morska voda ima pravilnu količinu otopljenih soli (Bark, 2007) iz razloga što salinitet utječe na učinkovitost intenziteta filtracije a time i na efikasnost pročišćavanja probavnog sustava školjkaša (Fleet, 1978; Shumway, 1996). Potrebna količina otopljenih soli varira od vrste do vrste. Tablica 2. prikazuje minimalne vrijednosti saliniteta za pojedine vrste organizma tijekom procesa purifikacije. Ukoliko prirodna morska voda, iz raznih razloga, nije dostupna postoji mogućnost korištenja umjetne morske vode (Bark, 2007).

Tablica 2. Minimalna vrijednost saliniteta (‰) za pojedinu vrstu organizma tijekom procesa depuracije (Bark, 2007).

	Minimalna razina saliniteta (‰)
Pacific Oysters ( <i>Crassostrea gigas</i> )	20.5
Kamenica ( <i>Ostrea edulis</i> )	25.0
Mytilus ( <i>Mytilus spp.</i> )	19.0
Cockles ( <i>Cardium edule</i> )	20.0
Hard clam ( <i>Mercenaria mercenaria</i> )	20.5
Natie clam ( <i>Tapes decussatus</i> )	20.5
Manila clam ( <i>Tapes philippinarum</i> )	20.5
Razor clams ( <i>Ensis spp.</i> )	30

#### 4.4.1.3. Temperatura

Temperatura vode u kojoj se nalaze školjkaši ima veliki utjecaj na rad metabolizma (Bark, 2007), odnosno na pročišćavanje probavnog sustava školjkaša (Fleet, 1978; Shumway, 1996). Za učinkovit rad metabolizma potrebno je da, tijekom procesa depuracije, temperatura vodene okoline bude iznad minimalne razine. Minimalna vrijednost temperature vode varira od vrste do vrste (tablica 3). Ukoliko je temperatura vodenog okoliša ispod minimalne razine,



metabolizam školjkaša postaje sporiji te se time smanjuje brzina uklanjanja kontaminanata iz organizma (Bark, 2007).

Tablica 3. Minimalna vrijednosti temperature (°C) za pojedini organizam tijekom procesa depuracije (Bark, 2007)

Minimalna razina temperature (°C)	
Pacific Oysters ( <i>Crassostrea gigas</i> )	8
Kamenica ( <i>Ostrea edulis</i> )	5
Mytilus ( <i>Mytilus spp.</i> )	5
Cockles ( <i>Cardium edule</i> )	7
Hard clam ( <i>Mercenaria mercenaria</i> )	12
Natie clam ( <i>Tapes decussatus</i> )	12
Manila clam ( <i>Tapes philippinarum</i> )	5
Razor clams ( <i>Ensis spp.</i> )	10

#### 4.4.1.4. Turbiditet

Turbiditet je svojstvo koje voda zaprima zbog povišene koncentracije suspendiranih čestica (Gippel, 1983). Njegova vrijednost ovisi o veličini, strukturi i obliku čestica koje se nalaze na površini vode (Gippel, 1995). Turbiditet ima bitnu ulogu u pročišćavanju iz dva razloga. Prvi razlog je što turbiditet negativno utječe na učinkovitost UV sterilizacije na način da suspendirane čestice mogu zaustaviti prodor UV svijetla te UV zračenje neće djelovati na mikroorganizme iza suspendiranih čestica. Na taj način, povećana količina suspendiranih tvari umanjuje efikasnost UV komponente te je potrebno vodu u sustavu mehanički filtrirati. Drugi razlog je da smanjuje efikasnost filtracije jer ukoliko je voda previše zamućena, smanjuje se aktivnost filtriranja školjkaša tijekom procesa pročišćavanja. Preporučeno je da voda treba imati zamućenost koja ne prelazi 15 NTU (eng. nephelometric turbidity units) te svi moderni depuracijski sustavi imaju komponentu za mehaničku filtraciju (Bark, 2007).

## **5. DEZINFEKCIJA VODE U SUSTAVIMA ZA DEPURACIJU**

Za dobivanje ispravnog proizvoda najznačajni dio purifikacije je sustav za dezinfekciju morske vode. Dezinfekcija ili sterilizacija vode služi za inaktivaciju mikroorganizma u vodi koju školjkaši filtriraju tijekom samog procesa. Cilj sterilizacije je dobivanje mikrobiološke ispravne vode. Vodu je moguće sterilizirati različitim metodama od koje se najviše upotrebljavaju UV zračenje i ozon. U prošlosti osim navedenog, voda se sterilizirala pomoću klora ili joda (Jackson i Ogburn, 1999).

### **5.1. Ultraljubičasta (UV) dezinfekcija**

Prije samog početka pročišćavanja, morska voda prolazi kroz sustav za UV dezinfekciju. Prolaskom kroz sustav, inaktiviraju se mikroorganizmi te se sprječava rekontaminacija organizma. UV sterilizacija upotrebljava se najviše u zemljama kao što: Australija, Danska, Malezija, Novi Zeland, Velika Britanija i SAD (Jackson i Ogburn, 1999).

Ultraljubičasto zračenje stvara reakciju s kisikom ( $O_2$ ) koji je otopljen u morskoj vodi, čime nastaje vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ). S valnom duljinom od 260 nm, utječe na nukleinsku kiselinu neutralizirajući mikroorganizme (Bitton, 1994). Ovim postupkom uništava se genetski materijal odnosno dolazi do kidanja molekularnih veza čime se sprječavaju transkripcija proteina i replikacija DNA (Legan, 1982). Ultraljubičasto zračenje, kod nekih organizma može izazvati fotoreaktivaciju. Fotoreaktivacija je proces koji popravljiva nastale promijene u mikroorganizmima kao posljedica djelovanja UV zračenja (Mechsner i sur., 1991; Bitton, 1994; Lindenaur i Darby, 1994). Varijable koje utječu na učinkovitost neutraliziranja mikroorganizma koji se nalaze u morskoj vodi su: doza zračenja, brzina protoka vode kroz lampu i prodiranje UV zračenja kroz vodu (Jackson i Ogburn, 1999). Doza UV zračenja ovisi o početnoj količini bakterija i virusa, odnosno pri povećanoj količini potrebna je veća doza UV zračenja (Herrington, 1991). Koncentracija prisutnih čestica na površinu vode, količina otopljene tvari i boja morske vode utječu na prodiranje UV zračenja kroz vodu (Rowse i Fleet, 1984).

Brojna istraživanja koja se bave utjecajem UV zračenja potvrđuju da ultraljubičasta dezinfekcija može inaktivirati široki udio mikroorganizma koje se nalaze u morskoj vodi (Tablica 4). No, mala koncentracija virusa ili bakterija može opstati u probavnom traktu školjkaša nakon završetka depuracije (Vasconcelos i Lee, 1972). Nasuprot tome, laboratorijska istraživanja ukazuju da su patogene bakterije jako osjetljive na UV zračenje

(Bitton, 1994, Chang i sur., 1985, Son i Fleet, 1980). Učinkovitost UV dezinfekcije na viruse je nedovoljno istraženo područje (Havelaar i sur, 1991).

Tablica 4. Inaktivacija mikroorganizma djelovanjem UV (izvor: Jackson i Ogburn, 1999)

Vrsta	UV doza	Protok u L/min	Turbiditet	% inaktivacije	Preuzeto od
Poliovirus tip 1	71,6 $\mu\text{W po cm}^2$	5-20	70 mg/L	100 %	Hill i sur., 1967.
Poliovirus tip 1	83 $\mu\text{W po cm}^2$	44	42-51 mg/L	> 99 %	Hill i sur., 1969.
Poliovirus 1,2,3 Echovirus 1,2 Coxsackiev virus A9 i B1 Reovirus 1	83 $\mu\text{W po cm}^2$	Statično	N/A	99,9 %	Hill i sur., 1970.
Poliovirus 1	30 mW po $\text{cm}^2$	Statično	N/A	99,9 %	Chang i sur., 1985.
<i>E. coli</i> <i>Salmonella typhi</i>	6 mW po $\text{cm}^2$	Statično	N/A	99,9 %	Chang i sur., 1985.
Spore <i>Bacillus subtilis</i>	60 mW po $\text{cm}^2$	Statično	N/A	99,9 %	Chang i sur., 1985.

## 5.2. Ozon

Ozon, molekula od tri atoma kisika, je kemijski oksidant koji se koristi u sustavima za pročišćavanje u Francuskoj i Španjolskoj. Reagira s organskim tvarima te kao i ostala sredstva za dezinfekciju inaktivira mikroorganizme uključujući enteroviruse. Utjecajem ozona na enteroviruse nastaju oštećenja na ribonukleinskoj kiselini (Roy i sur., 1981). Istraživanje koje je proveo Bitton (1994) ukazuje da ozon brže i efikasnije inaktivira ljudske rotaviruse od klora. Na učinkovitost ozona utječu suspendirane čestice i otopljeni organski ugljik (Bitton, 1994).

Ozon, kao oksidacijsko sredstvo, reagira s tkivom školjkalica te time štetno djeluje na sam organizam. Iz tog razloga, Američka Agencija za hranu i lijekove (USFDA) ne dopušta

uporabu ozona u sustavima za depuraciju školjkaša. Da bi se spriječio kontakt ozona s školjkašima, potrebno je ukloniti ovaj kemijski oksidant iz vode prije nego što se voda ulije u tankove za purifikaciju. Ozon se može ukloniti sljedećim metodama:

- ozonacijom izvan sustava za purifikaciju, pri čemu se u sustav upušta voda bez raktivnih kisikovih spojeva ;
- odstajavanjem vode prije same uporabe;
- UV zračenjem koji uklanja atom kisika pretvarajući ozon u kisik ili
- pomoću aktivnog ugljika (Bitton, 1994).

Sustavi za depuraciju u Francuskoj upotrebljavaju specifičnu metodu dezinfekcije. Dezinfekcija se vrši pomoću tri tanka. U prva dva tanka unosi se 0.4 mg/L ozona za vremenski period od 2 do 4 minute. Voda zatim prelazi u treći tank gdje odstoji desetak minuta omogućujući opadanje koncentracije ozona na 0,1 ili 0,2 mg/L. Ovom koncentracijom voda je spremna za proces pročišćavanja (Le Paulouë i sur., 1991).

### **5.3. Klor**

U obliku plinovitog klora ili natrijevog hipoklorita, ovaj se oksidans širom svijeta upotrebljava kao sredstvo za sterilizaciju (Trojan i Hansen, 1989). Ovaj kemijski element najefikasnije djeluje na crijevne bakterije (Bitton, 1994).

Djelujući na mikroorganizme, uzrokuje oštećenja na vanjskoj površini mikroorganizma te se probije sve do njihove unutrašnjosti uzrokujući oštećenja na nukleinskim kiselinama (DNA, RNA). Produkt koji nastaje reakcijom klora i vode je trihalometan, kancerogeni spoji. Za sprječavanje nastanja kancerogenih spojeva, moguće je zamjeniti klor s u uporabom kloramina. Istraživanja ukazuju da kloramini u kemijskoj reakciji s vodom ne proizvode štetne spojeve. Međutim, kloramin zahtijeva duži vremenski period za inaktivaciju mikroorganizma (Pilkington, 1995b). Koncentracija klora u vodi ima direktan utjecaj na način filtriranja školjkaša (Blogoslawski, 1991). Na sterilizaciju vode klorom utječu: pH, otopljene soli (Sharp i sur., 1980) i turbiditet vode (LeChevallier i sur., 1981). Laboratorijskim istraživanjima zabilježeno je da se Poliovirus neutralizira efikasnije kada voda ima pH = 10, nego pri pH = 6 (Sharp i sur., 1980). Za prikladniju dezinfekciju vode pomoću klora potrebno je povećati koncentraciju otopljenih soli kao što su kalijev klorid (KCl) i natrijev klorid (NaCl) (Berg i sur., 1990, Sharp i sur., 1980). Učinkovitost

dezinfekcije vode klorom povećava se sa smanjenom razinom turbiditeta (LeChevallier i sur., 1981).

#### **5.4. Jod**

Za dobivanje ispravnog proizvoda, u sustavima za pročišćavanje kao dezinficijens osim UV zračenja, ozona ili klora može se koristiti jod ili jodoform. No, korištenje ovih spojeva, iako se ranije istraživalo (Troyan i Hansen, 1989; Alvarez i O'Brien, 1982; Casagrande, 1978; Sobsey i sur., 1991; Sobsey i sur., 1991), danas je napušteno u komercijalnim sustavima za depuraciju.

## 6. MEHANIZAM DEPURACIJE

### 6.1. Opći dizajn i rad recirkulacijskog sustava za depuraciju

*Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science* (CEFAS) sa sjedištem u Ujedinjenom Kraljevstvu je centar koji se bavi istraživanjima akvakulture u svrhu poboljšane sigurnosti uzgajanih organizama za ljudsku konzumaciju. ([www.cefasc.co.uk](http://www.cefasc.co.uk)) Prema CEFAS-u većina sustava za depuraciju je recirkulacijskog tipa. Morska voda koja se recirkulira može biti prirodna ili umjetna (Bark, 2007). Ovaj tip sustava je značajan i široko korišten iz razloga što je ekonomski isplativ te zahtjeva znatno manju potrošnju morske vode za razliku od protočnog sustava (Jug-Dujaković i sur., 2008).

Kako bi pročišćavanje bilo uspješno i time osigurao ispravan proizvod za ljudsku konzumaciju, upotrijebljena voda treba zadovoljiti mikrobiološke, temperaturne uvjete te ostale parametre kvalitete vode (Bark, 2007; Jug-Dujaković i sur., 2008). Da bi zadovoljili mikrobiološke uvjete potrebno je dezinficirati morsku vodu prikladnim metodama dezinfekcije. U recirkulacijskim sustavima koristi se ista voda te kako bi se spriječilo razmnožavanje patogenih mikroorganizama, potrebno je da voda prolazi kroz komponentu za sterilizaciju (Jug-Dujaković i sur., 2008). CEFAS preporučuje UV kao prikladnu i efikasnu metodu dezinfekcije vode. U nekim se sustavima upotrebljava ozon (Jackson i Ogburn, 1999). Temperatura vode mora biti optimalna iz razloga što metabolička aktivnost ovisi o temperaturi okolne vode (NSW Food Authority, 2005).

Za recirkulaciju morske vode nužno je da budu opremljen pumpom (Bark, 2007). Pumpa je komponenta koja pokreće recirkulaciju morske vode (Jug-Dujaković i sur., 2008). U recirkulacijskim sustavima značajno je osigurati dovoljan i ravnomjeran protok vode (Bark, 2007). Protok vode opisuje volumen vode koji protiče u određenom vremenskom intervalu ([www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=50759](http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=50759)). Protok vode služi za održavanje odgovarajuće razine otopljenog kisika i za spriječavanje nakupljanja metaboličkih produkata. Potrebno je pripaziti da protok vode ne spriječava sedimentaciju fekalnog materijala na dnu tanka ili da ne uzrokuje podizanje fekalnog materijala koji se već sedimentirao. Ventil i mjerač protoka služe za reguliranje brzine protoka vode (Bark, 2007).

Tankovi, u kojima se odvija pročišćavanje, mogu biti plastični ili izrađeni od nehrđajućeg čelika. Sadrže čistu morsku vodu u kojoj se uranjanju školjkaši za minimalni period od 42 sata ili za maksimalni period od 48 sati (Bark, 2007). Dizajn tankova treba

omogućiti njihovo lako čišćenje i lako sedimentiranje fekalija ili hrane (Jug-Dujaković i sur., 2008). Tankovi koji su namjenjeni za proces depuracije imaju određenu dopuštenu količinu školjkaša. Uvjeti u tankovima trebaju biti takvi da nalikuju uvjetima iz njihovog prirodnog morskog okoliša. Posebnu pozornost treba usmjeriti sljedećim uvjetima: školjkašima treba omogućiti otvaranje ljuštura kako bi provodili uobičajnu filtraciju te je potrebno da tijekom cijelog procesa organizmi budu potpuno uronjeni. Preporučena razina vode u tankovima za pročišćavanje treba biti 80 mm iznad najviše postavljene posude (Bark, 2007). Razlog tome je što su školjkaši sesilni organizmi te bisusnim nitima (posebno dagnje), koje koriste za pričvršćivanje za podlogu pomijeraju prema samom vrhu tanka ([www.dalibor-andres.from.hr/uw/jme\\_021.htm](http://www.dalibor-andres.from.hr/uw/jme_021.htm)). Prema Pravilniku o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN, 99/07.b) tankovi u kojima se vrši proces depuracije školjkaša moraju zadovoljiti sljedeće uvjete:

- unutrašnji dio tanka mora biti glatkog, čvrstog i nepropusnog materijala te materijal treba biti takav da omogućuje olakšano čišćenje;
- dizajn mora biti takav da omogućava ravnomijeran oticaj vode;
- sustav mora biti projektiran tako da cijevi za dovod vode ne kontaminiraju vodu;
- cijevi koje se koriste u sustavu trebaju biti izrađene od netoksičnog materijala;
- cijevi i pumpe koje se koriste u stavu trebaju biti otporne na morsku sol a materijal ne smije biti metalan ili željezan.

U tankovima se školjkaši kojima su predhodno očistene ljuštore postavljaju složeni u kašetama (mrežastim posudama) u tank. Na dnu tanka dolazi do taloženja fekalija i dentritusa te za spriječavanje ponovne kontaminacije školjkaša potrebno je da posude budu uzdignute s dna (Bark, 2007).

Morska voda se u tankove dovodi rasprskavanjem pomoću posebne cijevi. Rasprskavanje vode na ulazu u tank omogućuje aeraciju (Bark, 2007). Do nedostatka kisika u vodi može doći jer školjkaši upotrebljavaju otopljen kisik za rad metabolizma. Bakterije koje se nalaze u vodi također upotrebljavaju kisik (Jug-Dujaković i sur., 2008).

U procesu depuracije značajnu ulogu ima omjer između količine školjkaša i volumena prisutne morske vode u tankovima. Nužno je pratiti količinu školjkaša u određenom volumenu vode radi održavanja određene količine otopljenog kisika. Otopljen

kisik je potreban kemijski element za provođenje normalne aktivnosti filtriranja. Također, potrebno je pratiti količinu školjkaša i volumena morske vode kako bi se osiguralo da produkti metabolizma ne uzrokuju dodatnu kontaminaciju. Kruti produkti metabolizma (feces koji predstavlja suspendiranu tvar i eventualno zaostale nečistoće na ljušturi) se pri svakom optoku vode kroz sustav eliminiraju mehaničkom filtracijom (Jug-Dujaković i sur., 2008). Maksimalni kapacitet školjkaša je ovisi o dizajnu sustava (Bark, 2007).

## 6.2 Standardni dizajnirani sustavi (CEFAS)

Standardni dizajnirani sustavi za pročišćavanje su potvrđeni sustavi koji ne zahtijevaju stroga bakteriološka ispitivanja. Tablica 5. prikazuje postojećih pet vrsta CEFAS-ovih standardnih dizanja sustava koji se razlikuju po kapacitetu (Bark, 2007).

Tablica 5. Maksimalna gustoća školjkaša za pet standardnih sustava za dagnje (*M. edulis*, *M. galloprovincialis* i hibride), Cockles (*Cerastoderma* Sp.), Pacifička kamenica (*Crassostrea gigis*), Native Oyster (*Ostrea edulis*), Manila Clam (*Tapes philippinarum*), Native Clam (*Tapes decussatus*) i razor clam (*Ensis* sp.) (Bark, 2007).

Tip sustava	Mussels <i>Mytilus</i> Species i hibridi	Cockles <i>Cardium</i> <i>edule</i>	Oysters Pacific & Native	Clam Manila & Native	Razor clam <i>Ensis</i> sp.
Mali volumen 550-600 L	90 kg	90 kg	750	84 kg	40 kg
Srednji volumen 2000-2600 L	750 kg	110 kg	4,150	500 kg	145 kg
Veliki volumen 9200L	1500 kg	220 kg	12,000	1000 kg	290 kg
„Bulk bin“ 1100 L posuda	300 kg	-	-	-	-
Vertikalno složeni 650 L sabirnik Ukupno 16 posuda	240 kg	80 kg	2000	224 kg	105 kg



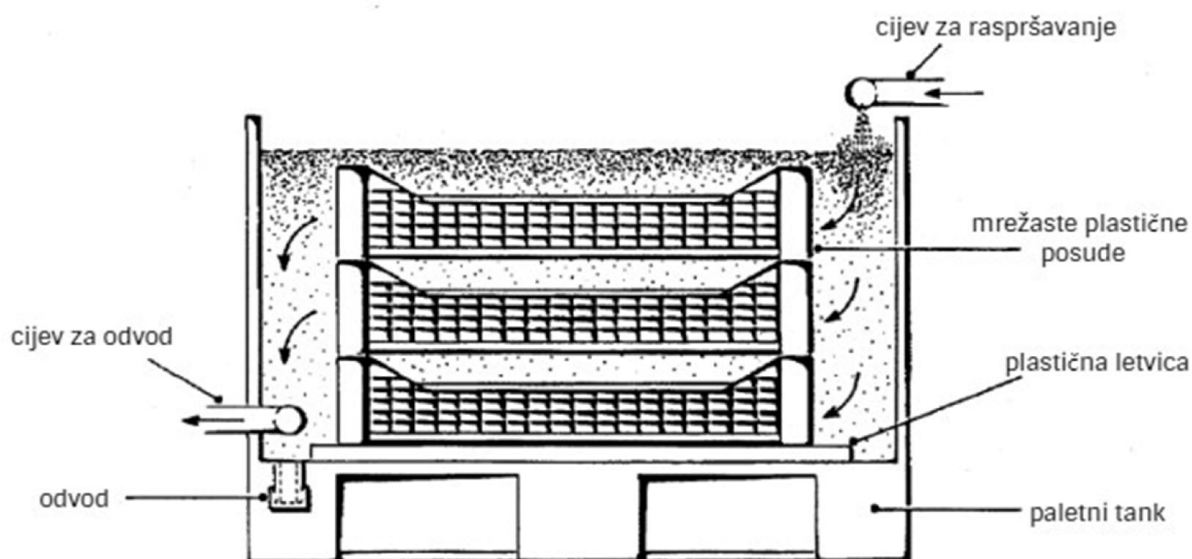
### 6.2.1. Standardni horizontalno dizajnirani sustav (mali volumen)

Standardni horizontalno dizajnirani sustav tankova malog volumena može sadržavati od 550 do 600 L morske vode. Ukupni kapacitet za dagnje iznosi 90 kg (Tablica 5). Tank koji se koristi u ovom sustavu je 650 litarski tkz. Allibert Type 21626 plastični paletni tank. U tankovima se postavljaju šest mrežastih plastičnih posuda raspodijeljenih u redove: tri vertikalno i dva horizontalno (Bark, 2007). Posude su mrežastog tipa radi omogućavanja protoka vode i opadanje fecesa na dnu tanka (Lee i sur., 2008). Nakon prelaska kroz jedinicu za sterilizaciju, rasprskavajući se, voda ulazi u tank za depuraciju. Aerirana voda prolazi kroz tank sa školjkašima te iz njega izlazi preko odvodne cijevi koja se nalazi na samom dnu tanka. Po izlasku iz tanka, voda prolazi kroz komponente za pročišćavanje, a pumpa ju vraća ponovno u tankove te se recirkulacija nastavlja ([www.snatural.com.br/PDF\\_arquivos/Aquicultura-Seafish-Standard-Design-Purify-System.pdf](http://www.snatural.com.br/PDF_arquivos/Aquicultura-Seafish-Standard-Design-Purify-System.pdf)). Da bi se spriječila rekontaminacija, posude trebaju biti uzdignute od dna tanka za 25 mm pomoću plastičnih letvica (Bark, 2007).



Slika 2. Cijev za odvod ([www.snatural.com.br/PDF\\_arquivos/Aquicultura-Seafish-Standard-Design-Purify-System.pdf](http://www.snatural.com.br/PDF_arquivos/Aquicultura-Seafish-Standard-Design-Purify-System.pdf)).

Standardni horizontalno dizajnirani sustav sastoji se od: odvodne cijevi, cijevi za raspršavanje te cijevi za međusobno povezivanje (slika 3). Za regulaciju protoka koristi se ventil i mjerač protoka. Pumpa koja se koristi je vodonepropusnog materijala s minimalnom brzinom protoka od 20 L/min (1.2 m<sup>3</sup>h). Za sterilizaciju vode koristi se UV jedinica od minimalno 25 W. Za punjenje i pražnjenje tankova vodom koriste se cijevi „T“ profila. Odvodna cijev se nalazi iznad dna tanka te je odvod na dnu tanka (Bark, 2007).



Slika 3. Prikaz dinamike protoka i opreme kod standardnog horizontalnog dizajna sustava plitkih tankova (Bark, 2007).

## 6.2.2 Standardni dizajnirani višeslojni sustav

Standardni dizajnirani višeslojni sustav dijeli se u dvije skupine: srednji standardni dizajnirani višeslojni sustav i veliki standardni dizajnirani višeslojni sustav (Bark, 2007).

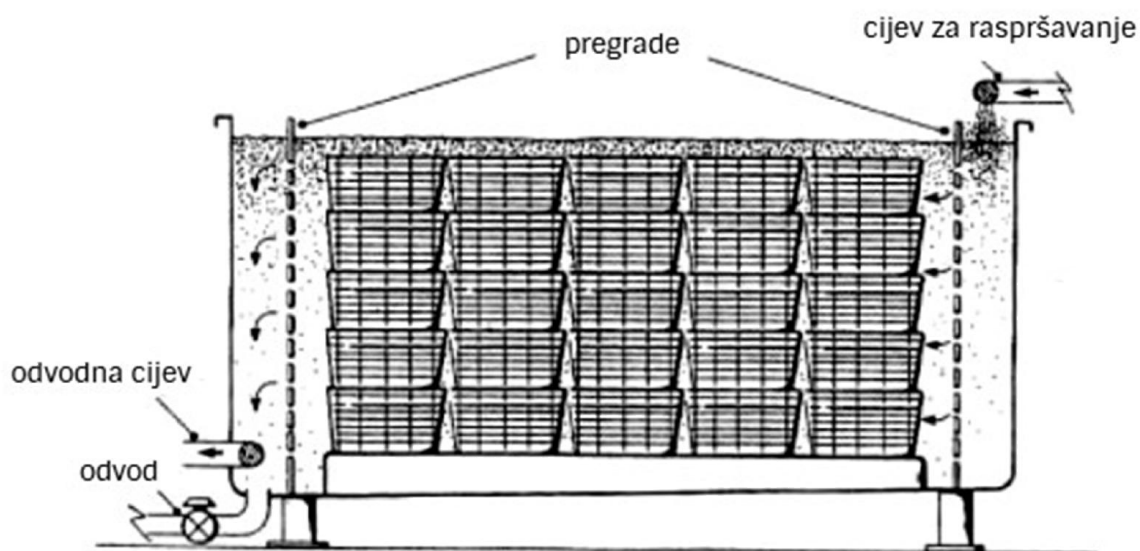
### 6.2.2.1. Vertikalni standardni dizajn sustav srednjeg kapaciteta

Ovaj sustav može sadržavati od 2000 L do 2600 L morske vode s ukupnim kapacitetom za dagnje od 750 kg (Tablica 5). U tankovima se postavljaju plastične posude mrežastog tipa raspodijeljene u redovima: deset horizontalno i pet vertikalno (Bark, 2007). Posude su mrežastog tipa radi omogućavanja protoka vode i opadanje fecesa na dnu tanka (Lee i sur., 2008). Tankovi mogu biti izrađeni od dva različita materijala, od plastičnog stakla ili od nehrđajućeg čelika. Da bi se spriječila ponovna kontaminacija, posude su uzdignute od dna tanka za 50 mm (Bark, 2007). Nakon prelaska kroz jedinicu za sterilizaciju, rasprskavajući se, voda ulazi u tank za depuraciju u prostoru između perforirane pregrade i samog kraja tanka. Rasprkavajući se, voda postaje oksigenirana. Prelaskom kroz perforirane pregrade voda teče između mrežastih posuda. Prelaskom kroz drugu perforiranu pregradu i cijevi za odvod koja se nalazi na dnu tanka, voda izlazi iz spremnika a recirkulacija se nastavlja. Pregrade služe za bolji protok vode te za osigurati svim školjkašima dovoljnu količinu kisika ([www.seafish.org/media/Publications/SR720\\_Medium-scale-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR720_Medium-scale-system.pdf)).



Slika 4. Perforirana pregrada ([www.seafish.org/media/Publications/SR720\\_Medium-scale-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR720_Medium-scale-system.pdf))

Srednji standardni dizajnirani sustav sastoji se od odvodne cijevi koja je smiještena iza pregrade, cijevi za raspršavanje, cijevi za međusobno povezivanje te perforirane pregrade (slika 5.). Za regulaciju protoka koristi se ventil i mjerac protoka. Pumpa koja se koristi je vodonepropusnog materijala s minimalnom brzinom protoka od 208,3 L/min (12,5 m<sup>3</sup>h). Za sterilizaciju vode koristi se UV jedinica od minimalno 4 x 30 W. Za punjenje i pražnjenje tankova vodom koriste se cijevi „T“ profila. Odvodna cijev nalazi se iznad dna tanka te je odvod na dnu tanka iza perforirane pregrade. (Bark, 2007).

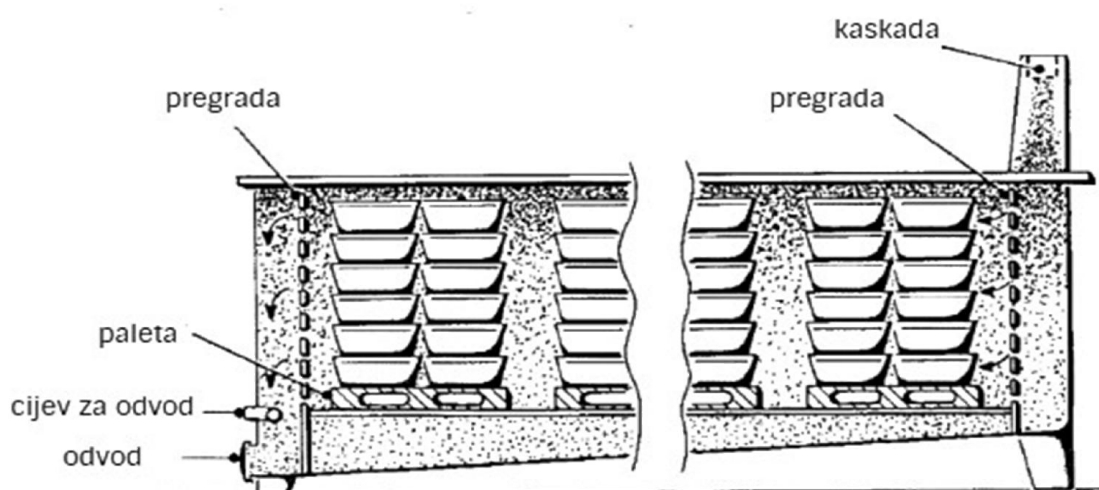


Slika 5. Prikaz postavljanja posuda, dinamike protoka i oprema kod srednje standardnog dizajna (Bark, 2007).

### 6.2.2.2. Veliki standardni dizajnirani sustav

Veliki standardni dizajnirani sustav može sadržavati 9200 L morske vode ukupnog kapaciteta za dagnje od 1500 kg (Tablica 5). U tankovima se postavljaju plastične posude mrežastog tipa raspodijeljene u redove: dvadeset horizontalno i pet vertikalno (Bark, 2007). Posude su mrežastog tipa radi omogućavanja protoka vode i opadanje fecesa na dnu tanka (Lee i sur., 2008). Tankovi mogu biti izrađeni od nehrđajućeg čelika (Bark, 2007). Nakon prelaska kroz jedinicu za sterilizaciju, voda kaskadno ulazi u tank za depuraciju u prostoru između perforirane pregrade i samog kraja tanka. Kaskadnim ulaskom, voda postaje aerirana. Prelaskom kroz perforirane pregrade voda teče između mrežastih posuda. Prelaskom kroz drugu perforiranu pregradu i cijevi za odvod koja se nalazi na dnu tanka, voda izlazi iz spremnika a recirkulacija se nastavlja. Pregrade služe za bolji protok vode te za osigurati svim školjkašima dovoljnu količinu kisika ([www.seafish.org/media/Publications/SR720\\_Medium-scale-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR720_Medium-scale-system.pdf)).

Veliki standardni dizajnirani sustav sastoji se od odvodne cijevi koja je smiještena iza pregrade, cijevi za raspršavanje, cijevi za međusobno povezivanje te perforirane pregrade (slika 6). Za regulaciju protoka koristi se ventil i mjerac protoka. Pumpa koja se koristi je vodonepropusnog materijala s minimalnom brzinom protoka od 158,3 L/min (9,5 m<sup>3</sup>h). Za sterilizaciju vode koristi se UV jedinica od minimalno 6 x 30 W. Za punjenje i pražnjenje tankova vodom koriste se cijevi „T“ profila. Odvodna cijev se nalazi iznad dna tanka te je odvod na dnu tanka iza perforirane pregrade (Bark, 2007).

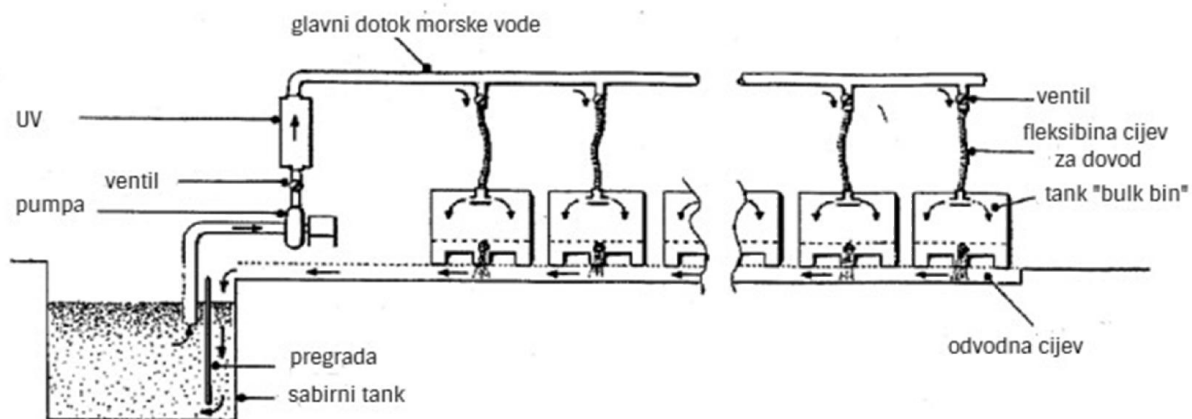


Slika 6. Prikaz postavljanja posuda, dinamike protoka i oprema kod srednje standardnog dizajna (Bark, 2007).

## 6.2.2 Standardni dizajnirani „bulk bin“ sustav

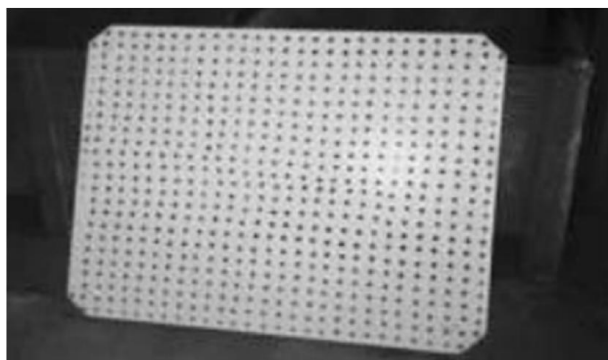
Standardni dizajnirani „bulk bin“ sustav je poseban sustav koji je prikladan isključivo za dagnje. Za razliku od ostalih standardnih dizajniranih sustava koji upotrebljavaju plastične posude, u ovom se sustavu *M. galloprovincialis* uranjanju višeslojno u duboke plastične paletne tankove. Tank koji se koristi je GPG Dolav tip D12105 s vanjskim dimenzijama od 1200 mm x 1000 mm x 740 mm, volumenom od 1100 L morske vode i ukupnim kapacitetom od 300 kg dagnji.

Ukupni sustav funkcionira tako da iz spremnika za sabirne vode, morska voda pomoću pumpe dolazi do jedinice za UV sterilizaciju (2 x 30 W po tanku) gdje se vrši mikrobiološka dezinfekcija vode. Iz jedinice za UV sterilizaciju, sterilna morska s minimalnim protokom od 108.3 L/min (6.5 m<sup>3</sup>/h) od glavnog toka, pomoću fleksibilne cijevi, ulijeva se u tankove. Brzina protoka je regulirana ventilom i mjerачem protoka. Fleksibilna cijev za dovod ulazi u svaki tank tako što se nalazi iznad *M. galloprovincialis*, ali ispod razine vode u tanku. Iz tankova, pomoću odvodnog kanala, morska voda vraća se u spremniku za sabirne vode (slika 7) (Bark, 2007).



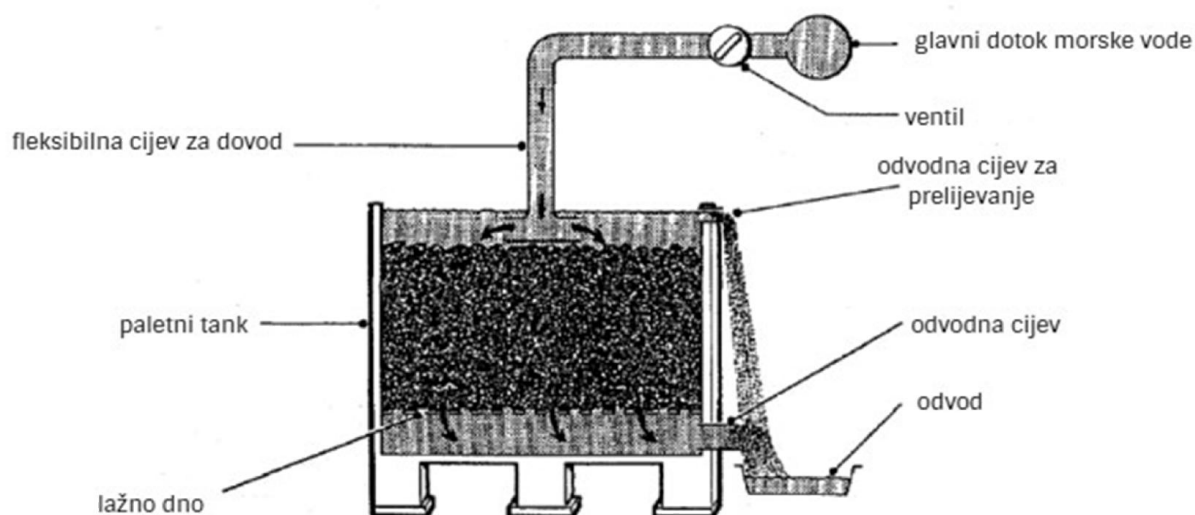
Slika 7. Ukupni sustav standardnog dizajniranog „bulk bin“ sustava (Bark, 2007).

Ovaj je sustav specifičan jer se sastoji od rupičastog lažnog dna (slika 8) koji je uzdignut od samog dna tanka za 80 mm. Rupe na lažnom dnu omogućavaju prolazak vode i fekalija. Lažno dno je specifično jer se može ukloniti za olakšano čišćenje. *M. galloprovincialis* postavljaju se 380 mm od samog dna (Bark, 2007).



Slika 8. Rupičasto lažno dno ([www.seafish.org/media/Publications/SR718\\_Bulk-bin-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR718_Bulk-bin-system.pdf)).

Sustav je opremljen s dvije odvodne cijevima. Jedna odvodna cijev se nalazi ispod rupičastog lažnog dna i omogućuje protok vode od 6500 L/h. Druga odvodna cijev se nalazi na samom vrhu tanka te omogućuje prelijev morske vode. Da bi se tankovi potpuno i automatski ispraznili dovoljno je isključiti dovod vode. Na dnu tanka dolazi do taloženja detritusa. Protokom, jedan dio taloženog detritusa može završiti u spremniku za sabirne vode, koji je osmišljen da onemogući njihovo taloženje. Kapacitet spremnika iznosi od 1 m<sup>3</sup> morske vode po tanku (Bark, 2007).



Slika 9. Dinamika protoka u jednom tanku „bulk bin“ (Bark, 2007).

### 6.2.3. Standardni „stacking“ sustav

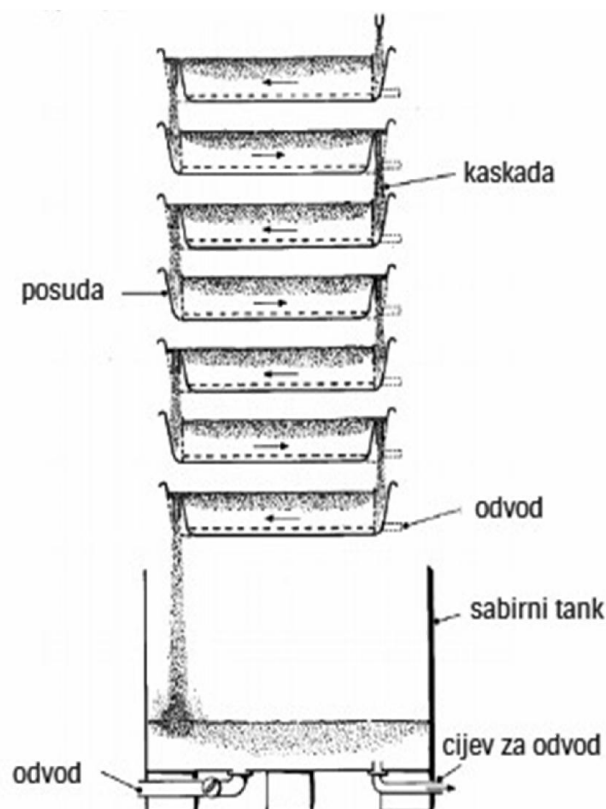
Standardni „stacking“ sustav može sadržavati 650 L morske vode s ukupnim kapacitetom od 240 kg dagnja. U ovom sustavu tank koji se koristi je paletnog materijala. Iznad tanka, na

nehrđajućoj podlozi, postavljeno je šesnaest posudica u kojima se nalaze školjkaši (Bark, 2007). Posudice koje se koriste su Allibert tip 12030 (slika 10) s dimenzijama od 800 mm x 450 mm x 150 mm ([www.seafish.org/media/1756603/sr722\\_vertical-stack-system\\_.pdf](http://www.seafish.org/media/1756603/sr722_vertical-stack-system_.pdf)), raspodijeljenje u dva stupca. Sustav funkcionira tako što se iz tanka voda pumpa do prve najviše posude te se kaskadno prelijeva u ostale posude, ali ne direktno na školjkaše. Voda zatim pada u tanku. Do oksigenacije vode dolazi pomoću kaskade. Voda se kaskadno prelijeva u posebne udubine koje su odvojene od same posude pomoću specijalne pregrade. Svaka posuda ima plastičnu podlogu mrežastog tipa s funkcijom držanja dagnje dalje od dna tanka kako bi se spriječila rekontaminacija (Bark, 2007). Također, svaka posuda ima svoj odvod koji je povezan sa sabirnim tankom ([www.seafish.org/media/1756603/sr722\\_vertical-stack-system\\_.pdf](http://www.seafish.org/media/1756603/sr722_vertical-stack-system_.pdf)). Pri završetku procesa, podlogu je moguće ukloniti za olakšano čišćenje dna (Bark, 2007).



Slika 10. Posuda Allibert tip 12030 s dimenzijama od 800 mm x 450 mm x 150 mm ([www.seafish.org/media/1756603/sr722\\_vertical-stack-system\\_.pdf](http://www.seafish.org/media/1756603/sr722_vertical-stack-system_.pdf)).

Oprema sustava sastoji se od odvodne cijevi (slika 11). Za regulaciju protoka koristi se ventil i mjerac protoka. Pumpa koja se koristi je vodonepropusnog materijala s minimalnom brzinom protoka od 15 L/min (0,9 m<sup>3</sup>h). Za sterilizaciju vode koristi se UV jedinica od minimalno 25 W. Za punjenje i pražnjenje tanka morskom vodom koriste se cijevi „T“ profila (Bark, 2007).



Slika 11. Ukupni sustav standardnog „stacking“ sustava (Bark, 2007).

### 6.3. Recirkulacijski vertikalni sustav

Tehnološki i poslovni-inovacijski centar za marikulturu MARIBIC je dizajnirao, pridržavajući se preporuka FAO-a i CEFAS-a, recirkulacijski verikalni sustav veće efikasnosti od prethodno opisanih sustava (Jug-Dujaković i sur., 2011).

Morska voda, pomoću pumpe, ulazi u komponentu za odstranjivanje stranih čestica. Voda nakon prelaska kroz pješčani i dijatomejski filter u kojem se odstranjuju hrana i feces, odlazi u jedinicu za UV sterilizaciju (Jug-Dujaković i sur., 2011). Prelaskom kroz komponentu za sterilizaciju voda postaje sterilna, što povećava učinkovitost depuracije. Tokom procesa voda također prolazi kroz biofilter koji oksidira amonijak u nitrata (Jug-Dujaković i sur., 2008), a čestice ulja i/ili masti iz vode pomoću protein skimmera također se eliminiraju iz vode. Tijekom cijelog procesa prati se: temperatura vode, protok vode, koncentracija kisika, koncentracija otopljenih soli te pH vode kako bi se osiguralo da ovi parametri konstantno budu na optimalnoj razini (Jug-Dujaković i sur., 2011). Ukoliko vrijednost pH nije optimalna (radi povećane razine CO<sub>2</sub> može pasti), peristaltičkom pumpom



dodaje se NaOH kako bi se pH vrijednost vode održala na optimalnoj razini (Jug-Dujaković i sur., 2008).

## 7. ZAKLJUČAK

Filtracijom vode, školjkaši, akumuliraju štetne tvari i mikroorganizme iz okolne morske vode. Ukoliko potječu iz kontaminiranog područja, njihova konzumacija može predstavljati ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje. Bolesti koje se mogu prenositi konzumacijom školjkaša su različite, a uzročnik je većinom fekalna kontaminacija. Kako bi se izbjegla pojava bolesti kod ljudi, prije samog plasiranja školjkaša na svjetsko tržište, nužno je da se organizmi purificiraju. Proces purifikacije ili depuracije odvija se u centru za pročišćavanje u posebnim tankovima pri kontroliranim uvjetima. Školjkaši filtracijom sterilne morske vode iz organizma ispuštaju akumulirane tvari te time postaju mikrobiološki ispravni. Da bi se omogućilo konstantno filtriranje potrebno je pripaziti na parametre kao što su temperatura, salinitet, pH, razina otopljenog kisika, protok vode te turbiditet. Za sterilaciju vode najčešće se upotrebljava ultraljubičasto zračenje. Ukoliko je početna koncentracija patogena u školjkašima povećana, uspješnost samog procesa se smanjuje. Efikasnost procesa depuracije ovisit će o efikasnosti pojedinih komponenti sustava, postupanju sa školjkašima nakon izlova i početnoj koncentraciji mikroorganizama. Osim toga, centri za pročišćavanje i otpremni centri nužni su pridržavati se zakonskih regulativa. Ukazano je da purifikacija uspješno uklanja prisutne bakterije iz organizma, međutim, iako se veliki broj prisutnih virusa uspješno ispušta iz školjkaša njihovo je uklanjanje u procesu nedovoljno istraženo područje. Rezultati brojnih istraživanja potvrdili su nužnost ovog procesa za osiguranje mikrobiološke ispravnosti školjkaša za ljudsku konzumaciju čime se smanjuje mogućnost prijenosa bolesti.

## 8. LITERATURA

- Adams, M., Moss M.O., 2000. *Food Microbiology* (2<sup>nd</sup> ed). The Royal Society of Chemistry, UK.
- Ahmed, F.E., 1991. *Seafood Safety*. National Academy Press. Washington DC, USA.
- Alvarez, M.E., O'Brien, R.T., 1982. Mechanisms of inactivation of Poliovirus by chlorine dioxide and iodine. *Applied and Environmental Microbiology*, 44 (5): 1064-1071.
- Ayres, P.A., 1991. The status of shellfish depuration in Australia and south-east Asia. *In*: Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). *Molluscan Shellfish Depuration*, CRC Press, Boca Raton, FL, 287-322.
- Bark, S., 2007. Inspection and approval of purification (depuration) systems – guidance notes for local enforcement authorities. CEFAS. UK, 1-17.
- Berg, G., Sanjaghsaz, H., Wangwongwatana, S., 1990. KCl potentiation of the virucidal effectiveness of free chlorine at pH 9.0. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (6): 1571-1575.
- Bitton, G., 1994. *Wastewater Microbiology*. Wiley-Liss, New York, 478.
- Blogoslawski, W., 1991. Enhancing depuration. *In*: Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). *Molluscan Shellfish Depuration*, CRC Press, Boca Raton, 145-149.
- CAC (Codex Alimentarius Commission), 2001. *Food Hygiene Basic Texts* (2<sup>nd</sup> ed). Food and Agriculture Organization / World Health Organization, Rome, Italy.
- Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A., 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci Total Environ*, 247 (2-3): 295-311.

- Canzonier, W.J., 1988. Public health component of bivalve shellfish production and marketing. *J. Shellfish Res.*, 7 (2): 261-6.
- Canzonier, W.J., 1991. Historical perspective on commercial depuration of shellfish. *In*: Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). *Molluscan Shellfish Depuration*. CRC Press. Boca Raton, FL, 7-15.
- Casagrande, F., 1978. Effective purification in aquaculture. *Ceiba Geigy Journal* 1: 22-25.
- Caul, E.O., 2000. Foodborne Viruses. *In*: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds). *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, USA, 1457-1489.
- Chang, J.C.H., Ossoff, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G., Johnson, J.D., 1985. UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 49 (6): 1361-1365.
- Chiavelli, D.A., Marsh J.W., Taylor, R.K., 2001. The mannose-sensitive hemagglutinin of *Vibrio cholerae* promotes adherence to zooplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (7): 3220-3225.
- Cliver, D.O., 1994. Epidemiology of viral foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 57 (3): 263-266.
- Cliver, D.O., 1997. Foodborne virus. *In*: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, USA, 437-446.
- de Mesquita, M.M., Evison, L.M., West, P.A., 1991. Removal of faecal indicator bacteria and bacteriophages from the common mussel (*Mytilus edulis*) under artificial depuration conditions. *Journal of Applied Bacteriology*, 70 (6): 495-501.

- Doyle, M.P., Zhao, T., Meng, J., Zhao, S., 1997. *Escherichia coli* O157:H7. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington DC, USA, 171-191.
- Dressel, D.M., Snyder, M.I., 1991. Depuration - the regulatory perspective. In: Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). *Molluscan Shellfish Depuration*. CRC Press. Boca Raton, FL, 19-23.
- EC (European Commission), 2001. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in raw and undercooked seafood. Brussels, Belgium.
- EC (European Commission), 2002. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on Norwalk-like viruses. Brussels, Belgium.
- Eyles, M.J., 1980. Accumulation and elimination of viruses by oysters. *Food Technology in Australia*, 32 (2): 89-91.
- Eyles, M.J., Davey, G.R., 1984. Microbiology of commercial depuration of the Sydney rock oyster, *Crassostrea commercialis*. *Journal of Food Protection* 47: 703-706.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 2001. Joint FAO/WHO Expert consultation on risk characterization of *Salmonella* spp. in eggs and broiler chickens and of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. FAO Food and Nutrition Paper 72. FAO/WHO, FAO, Rome, Italy.
- Farber, J.M., Peterkin P.I., 2000. *Listeria monocytogenes*. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds). *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, USA, 1178-1232.
- Fayer, R., Farley, C.A., Lewis, E.J., Trout, J.M., Graczyk, T. K., 1997. Potential role of the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*, in the epidemiology of *Cryptosporidium parvum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (5): 2086-2088.

- FDA (US Food and Drug Administration), 1998. *Fish and Fishery Products Hazard and Control Guide* (2<sup>nd</sup> ed). FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington DC, USA.
- FDA (US Food and Drug Administration), 2000. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA, US Department of Health and Human Services.
- Feldhusen, F., 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection*, 2 (13): 1651-1660.
- Fleet, G. H., 1978. Oyster depuration - a review. *Food Technology in Australia*, 30: 444-454.
- Gavrilović, A., Jug-Dujaković, J., 2016. Analiza efikasnosti purifikacijskih sustava za školjkaše. Proceeding of the 51<sup>st</sup> Croatian and 11<sup>th</sup> International Symposium on Agriculture, Opatija, February 2016, 127-128.
- Gavrilović, A., Jug-Dujaković, J., Marinović-Bonačić, A., Conides A., Bonačić K., Ljubičić, A., Van Gorder, S., 2011. The influence of environmental parameters on the growth and meat quality of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia). *AACL Bioflux*, 4 (5): 573-583.
- Gippel, C.J., 1983. The Effect of Water Colour, Particle Size and Particle Composition on Stream Water Turbidity Measurements, Working Paper 1988/3, Department of Geography and Oceanography, University College, Australian Defence Force Academy, Canberra, 38.
- Gippel, C.J., 1995. Potential of turbidity monitoring for measuring the transport of suspended solids in streams. *Hydrological Processes*, 8: 83-97.
- Granum, P.E., Baird-Parker, T.C., 2000. Bacillus species. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds). *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, USA. 1029-1039.

- Groubert, T.N., Oliver J.D., 1994. Interaction of *Vibrio vulnificus* and the Eastern Oyster, *Crassostrea Virginica*. *Journal of Food Protection*, 57 (3): 224-228.
- Hall, S., 1991. Natural Toxins. *In*: Ward, D.R., Hackney, C. R. (eds). *Microbiology of Marine Food Products*, Van Nostrand Reinhold, New York, 301-330.
- Halliday, M.L., Kang, L.Y., Zhou, T.K. et al., 1991. An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *Journal of Infectious Disease* 164, 362-364.
- Hauschild, A.H.W., 1989. *Clostridium botulinum*. *In*: Doyle, M.P. (eds). *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, 111-190.
- Herrington, T., 1991. Use of ultraviolet light in depuration. *In*: Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). *Molluscan Shellfish Depuration* CRC Press, Boca Raton, FL, 137-144.
- Hill, W.F., Hamblett, F.E., Akin, E.W., 1967. Survival of Poliovirus in flowing turbid sea water treated with ultraviolet light. *Applied Microbiology*, 15 (3): 533-536.
- Hill, W.F., Hamblett, F.E., Benton, W.H., 1969. Inactivation of Poliovirus type 1 by the Kelly-Purdy ultraviolet sea water treatment unit. *Applied Microbiology*, 17 (1): 1-6.
- Hill, W.F., Hamblett, F.E., Benton, W.H., Akin, E.W., 1970. Ultraviolet devitalisation of eight selected enteric viruses in estuarine water. *Applied Microbiology*, 19 (5): 805-812.
- Huss, H.H., 1997. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*, 8 (2): 91-98.
- Huss, H.H., Gram, L., Ababouch, L., 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. Food and Agriculture organization of the United Nations, Rome, FAO 2004. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 444. Rome, FAO. 2003, 1-84.

- Jackson, K.L., Ogburn, D.M., 1999. Review of depuration and its role in shellfish quality assurance. FRDC Project No. 96/355. NSW Fisheries Final Report Series No. 13. ISSN 1440-3544, 1-59.
- Jiménez, L., Munir, J., Toranzos, G.G., Hazen, T.C., 1989. Survival and activity of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in tropical fresh water. *Journal of Applied Bacteriology*, 67 (1): 61-69.
- Jug-Dujaković, J., Gavrilović A., Glamuzina B., 2008. Sustavi recirkulacije u akvakulturi slatkovodne ribe. Drugo savjetovanje o slatkovodnom ribarstvu. HGK (ed. Bogut, I.). Vukovar, April, 2008, 27-31.
- Jug-Dujaković M., Gavrilović A., Jug-Dujaković J., 2011, Croatian Shellfish Dispatch Centres Legislation, 1-6.
- Kaysner, C.A., 2000. *Vibrio* species. In: Lund, B.M., Baird-Parker T.C., Gould, G.W. (eds) The Microbiological Safety and Quality of Foods. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 1336-1362.
- Kfir, R., Burger, J.S., Idema, G.K., 1993. Detection of *Salmonella* in shellfish grown in polluted sea water. *Water Science and Technology*, 27 (3-4): 41-44.
- Kothary, M.H., Babu, U., 2001. Infectious dose of foodborne pathogens in volunteers: A review. *Journal of Food Safety* 21, 49-73.
- Lampel, K.A., Madden J.M., Wachsmuth I.K., 2000. *Shigella* species. In: Lund, B.M., Baird-Parker T.C., Gould, G.W. (eds) *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 1200-1216.
- Le Paulouë, P., Langlais, B., Poggi, R. , Perrot, Y., 1991. French Shellfish Industry Regulatory Status and Depuration Techniques. In: Otwell, W.S., Rodrick G.E., and Martin, R.E. (eds) *Molluscan Shellfish Depuration*, CRC Press, Boca Raton, FL, 341-360.



- LeChevalier, M.W., Evans, T.M., Seidler, R.J., 1981. Effect of turbidity on chlorination efficiency and bacterial persistence in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 42 (1): 159-167.
- Lees, D., 2000. Viruses and bivalve shellfish. *International Journal of Food Microbiology* 59: 81-116.
- Linco, S.J., Grohmann, G.S., 1980. The Darwin outbreak of oyster-associated viral gastroenteritis. *Medical Journal of Australia*, 1 (5): 211-213.
- Little, C.L., Monsey, H.A., Nichols, G.L., de Louvois J., 1997. The microbiological quality of cooked, ready-to-eat, out-of-the shell molluscs – a report of the results of a study by the LACOT/PHLS co-ordinated food Liaison Group Microbiological Sampling Group. *PHLS Microbiological Digest* 14, 196-201.
- Lee, R., Lovatelli, A., Ababouch, L., 2008. Bivalve depuration: fundamental and practical aspects. *FAO Fisheries Tehnical Paper* 511, Rome, 23-40.
- Legan, R.W., 1982. Ultraviolet light takes on a CPI role. *Chemical Engineering*, 89 (2): 95-100.
- Lindenauer, K.G., Darby, J.L., 1994. Ultraviolet disinfection of wastewater: effect of dose on subsequent photoreactivation. *Water Research Oxford*, 28 (4): 805-817.
- Lund, B.M., Peck, M.W., 2000. *Clostridium botulinum*. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (eds) *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersberg, Maryland, USA, 1057-1110.
- Mašić M., 2004. Higijena i tehnologija prerade školjaka. Znanstveno stručni rad
- Mechsner, K.I., Fleischmann, T., Mason, C.A., Hamer, G., 1991. UV disinfection: Short term inactivation and revival. *Health Related Microbiology*, 24 (2): 339-342.

- Murphree, R.L., Tamplin, M.L., 1995. Uptake and retention of *Vibrio cholerae* O1 in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (10): 3656-3660.
- Murphy, A.M., Grohmann, G.S., Christopher, P.J., Lopez, W.A., Davey, G.R., Millsom, R.H., 1979. An Australia-wide outbreak of gastroenteritis from oysters caused by Norwalk virus. *Medical Journal of Australia*, 2 (7): 329-333.
- NN, 70/05. Zakonu o zaštiti prirode.
- NN, 46/07. Zakon o hrani.
- NN, 99/07.a. Pravilnik o higijeni hrane.
- NN, 99/07.b. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla.
- NN, 99/07.c. Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla.
- NN, 99/07.d. Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani i hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja.
- NN, 82/14. Plan praćenja kakvoće mora i školjkaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjkaša.
- NN, 117/14. Pravilnik o veterinarsko-zdravstvenim uvjetima za izlov, uzgoj, pročišćavanje i stavljanje u promet živih školjkaša.
- NSW Food Authority, 2005. Guideline for the Wet Storage of Shellfish. NSW, 7-22.
- Oliver, J.D., Kaper J.B., 1997. *Vibrio* species. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington DC, USA, 228-264.

- O'Neill, K.R., Jones, S.H., Grimes, D.J., 1992. Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay estuary of New Hampshire and Maine. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (10): 3257-3262.
- Oraić, D., Zrnić S., Salajster M., 2001. Preventiva, kontrola bolesti i ocjena kakvoće riba i školjka. Tečaj. Projekt: Razvitak službi za potporu obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Hrvatski veterinarski institut, Zagreb.
- Otwell, W.S., Rodrick, G.E., Martin, R.E. (eds). 1991. Molluscan Shellfish Depuration. CRC Press. Boca Raton, FL, 384 str.
- Palumbo, S., Stelma G.N., Abeyta C., 2000. The *Aeromonas hydrophila* group. In: Lund, B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W. (eds) *The Microbiological Safety and Quality of Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, USA, 1011-1028.
- Pilkington, N.H., 1995. Disinfection: an Overview. In: Kolarik, L.O., Priestley, A.J. (eds). *Modern Techniques in Water and Wastewater Treatment*, CSIRO Publishing, East Melbourne, 75-79.
- Rhodes, M.W., Kator H., 1988. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in estuarine environments. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 2902-2907.
- Rosenberg, G., 2014. New critical estimate of named species-level diversity of the recent Mollusca. *American Malacological Bulletin*, 32 (2): 308-322.
- Rowse, A.J., Fleet, G.H., 1984. Effects of water temperature and salinity on elimination of *Salmonella* charity and *Escherichia coli* from Sydney rock oysters (*Crassostrea commercialis*). *Applied and Environmental Microbiology*, 48 (5): 1061-1063.
- Roy, D., Wong, P.K.Y., Engelbrecht, R.S., Chian, E.S.K., 1981. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Applied and Environmental Microbiology*, 41 (3): 718-723.

- Scoging, A.C., 1998. Marine biotoxins. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement* 84, 41S-50S.
- Sharp, D.G., Young, D.C., Floyd, R., Johnson, J.D., 1980. Effect of ionic environment on the inactivation of poliovirus in water by chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*, 39 (3): 530-534.
- Shumway, S.E., 1996. Natural Environmental Factors. *In*: Kennedy, V.S., Newell, R.I.E., Elbe, A.F. (eds). *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, College Park, Maryland, 467-513.
- Sobsey, M.D., Oldham, C.E., McCall, D.E., 1991. Comparative Inactivation of Hepatitis A Virus and Other Enteroviruses in Water by Iodine. *In*: Grabow, W.O.K., Morris, R., Botzenhart, K. (eds). *Health-related Water Microbiology. Proceedings of an International Symposium organised by the IAWPRC Specialist Group on Health-Related Water Microbiology - Tübingen, Germany, 1-6 April 1990*. *Water Science and Technology*, 24 (2): 331-338.
- Son, N.T., Fleet, G.H., 1980. Behaviour of pathogenic bacteria in the oyster, *Crassostrea commercialis*, during depuration, re-laying, and storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 40 (6): 994-1002.
- Souness, R.A., Fleet, G.H., 1979. Depuration of the Sydney Rock oyster, *Crassostrea commercialis*. *Food Technology in Australia*, 31: 397-398, 400-404.
- Tamplin, M.L., Capers, G.M., 1992. Persistence of *Vibrio vulnificus* in tissues of Gulf coast oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to seawater disinfected with UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (5): 1506-1510.
- Tang, Y.W., Wang, J.X., Xu, Z.Y., Guo, Y.F., Qian, W.H., Xu, J.X., 1991. A serologically confirmed case-control study of a large outbreak of hepatitis A in China associated with consumption of clams. *Epidemiology and Infection* 107, 651-658.

Troyan, J.J., Hansen, S.P., 1989. Treatment of Microbial Contaminants in potable Water Supplies: Technologies and Costs. Pollution Technology Review No. 171, Noyes Data Corporation, New Jersey, USA, 335.

Twedt, R.M., 1989. *Vibro parahaemolyticus*. In: Doyle, M. (ed) Food-borne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker Inc., NY, USA, 543-568.

Vasconcelos, G.J., Lee, J. S., 1972. Microbial flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) subjected to ultraviolet-irradiated seawater. Applied Microbiology, 23 (1): 11-16.

Wachsmuth, K., Morris, G.K., 1989. Shigella. In: Doyle, M.P. (ed) Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker Inc., 447-462.

[www.cefas.co.uk](http://www.cefas.co.uk)

[www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=54191](http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=54191)

[www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=50759](http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=50759)

[www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/#1](http://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/dissolved-oxygen/#1)

[www.ribarstvo.mps.hr/default.aspx?id=14](http://www.ribarstvo.mps.hr/default.aspx?id=14)

[www.seafish.org/media/Publications/SR720\\_Medium-scale-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR720_Medium-scale-system.pdf)

[www.seafish.org/media/Publications/SR718\\_Bulk-bin-system.pdf](http://www.seafish.org/media/Publications/SR718_Bulk-bin-system.pdf)

[www.seafish.org/media/1756603/sr722\\_vertical-stack-system\\_.pdf](http://www.seafish.org/media/1756603/sr722_vertical-stack-system_.pdf)

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli

Završni rad

Sveučilišni preddiplomski studij Znanost o moru

## Postupak depuracije školjkaša

ILENIA SUDULIĆ

### Sažetak

Poznato je da 70% zemljine površine sačinjavaju mora i oceani, te je jedna od najaktualnijih tema posljednjih godina zagađenje vodenog okoliša. Veliki udio štetnih tvari u moru dopijeva s kopna. Masovan broj industrija, sva češća uporaba pesticida u poljoprivredi, korištenje raznih plovidba, kanalizacijski otpad i sl. uzrokuju zagađenje odnosno onečišćenje morske vode. Najugroženiji je obalni dio mora gdje biološki, kemijski i fizikalni kontaminanti utječu, osim na morsku vodu, na morske organizme područja. Nakon ulova, veliki broj organizama se upotrebljava za ljudsku konzumaciju. Primijer tome su školjkaši, koji se većinom konzumiraju siroviti ili nedovoljno termički obrađeni te je posebno važno voditi računa o njihovoj mikrobiološkoj ispravnosti. Cilj ovog rada je opisati postupak procesa depuracije i njegovu značajnost sa zdravljem potrošača pri konzumaciji školjkaša. Detaljno su prikazane i opisane biološke, kemijske i fizičke tvari koje izazivaju negativne posljedice za ljudsko zdravlje pri konzumaciji kontaminiranih školjkaša. Objašnjen je postupak procesa depuracije, značajnost praćenja parametra kvalitete vode, te su navedeni najznačajniji propisi za osiguranje ispravnost proizvoda.

**Ključne riječi:** depuracija, purifikacija, školjkaši

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović

**Ocjenjivači:** izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović  
izv. prof. dr. sc. Mauro Štifanić  
Doc. dr. sc. Paolo Paliaga

**Datum obrane:** 10.09.2018.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

Juraj Dobrila University of Pula

Bachelor thesis

University Undergraduate Study Programme – Marine Sciences

### **Shellfish depuration**

ILENIA SUDULIĆ

#### **ABSTRACT**

It is known that 70% of the Earth's surface is made up of seas and oceans, and one of the most latest topics in the last few years is the pollution of the aquatic environment. A big amount of harmful substances in the sea comes from the land. The massive number of industries, the more frequent use of pesticides in agriculture, the use of various vessels, all types of urban waste, etc., cause marine pollution. The most endangered is the seacoste where biological, chemical and physical contaminants affect the seawater and all the marine organisms of the area. After harvesting, a large number of organisms are consumed as human food. An example are shellfish, which are mostly consumed raw or slightly cooked, and it is especially important to take into account their microbiological safety. The aim of this bachelor thesis is to describe the process of depuration and its significance with the public health. The thesis describe all biological, chemical and physical substances that have negative consequences on public health. The process of depuration is explained as well as the importance of monitoring the parameters that effect the rate of depuration and some of the most important regulations in preventing foodborne disease.

**Key words:** depuration, purification, shellfish

**Supervisor:** izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović

**Reviewers:** izv. prof. dr. sc. Ana Gavrilović  
izv. prof. dr. sc. Mauro Štifanić  
Doc. dr. sc. Paolo Paliaga

**Thesis defense:** 10.09.2018.